

# ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

COLLOQUE ANNUEL  
DE LA SOCIÉTÉ FRANÇAISE DE MICROBIOLOGIE

« Evolution des bactéries  
et de l'aspect des infections  
sous l'influence des antibiotiques »

## INTRODUCTION

par Ch. GERNEZ-RIEUX.

(*Institut Pasteur, Lille*)

La notion de pouvoir antibiotique a été nettement exprimée, il y a un peu plus d'un siècle, par Pasteur. C'est à Lille, devant la Société des Sciences, de l'Agriculture et des Arts, qu'il la développa le 3 août 1857, dans son fameux mémoire sur « La fermentation appelée lactique ».

Après avoir décrit la nouvelle levure et ses propriétés, il précise « les circonstances les mieux appropriées » à son isolement et recherche les moyens d'éliminer la levure de bière et les « animalcules » qui gênent son développement.

« Tous les faits que j'ai recueillis me portent à croire, écrit-il, que le moyen le plus efficace pour atteindre ce résultat est de chercher à nuire à la production des ferments parasites au moyen

de substances particulières »... « L'huile essentielle du jus d'oignons s'oppose complètement à la formation de la levure de bière ; elle paraît nuire également aux infusoires, en arrêter le développement, sans influencer notablement sur celui de la levure lactique. » « Je reviendrai, dans un travail spécial, conclut-il, sur l'utilité de l'emploi de ce jus naturel. »

N'est-ce pas là, clairement formulé, le concept de l'antibiose ?

Prise dans l'acception très large que lui donnait Pasteur, cette conception risquerait d'étendre beaucoup trop le sujet de ce Colloque.

Et pourtant, on ne peut plus limiter aujourd'hui la notion d'antibiotiques « aux produits anti-microbiens élaborés par des microorganismes vivants ».

La citrinine n'est-elle pas un antibiotique ?

Nos collègues soviétiques ont proposé le terme de « phytoncide » pour désigner ces substances anti-microbiennes d'origine végétale. Est-ce bien nécessaire ?

Par contre, certaines drogues, telles que les composés tensio-actifs, ne sont qu'indirectement anti-microbiennes et n'exercent leur action qu'en conférant aux monocytes le pouvoir d'inhiber le développement des microorganismes. Ce ne sont pas, à proprement parler, des antibiotiques.

Mais l'isoniazide, produite synthétiquement, n'entre pas davantage, par définition, dans le cadre des antibiotiques. Et pourtant, son action anti-microbienne n'est-elle pas, dans les grandes lignes, comparable à celle des autres substances anti-bactériennes extraites, elles, de microorganismes vivants ?

Je crois que, bien plus que leur origine, c'est leur activité anti-microbienne *élective* et *sélective*, à des doses infimes, de l'ordre du microgramme, qui commande un rapprochement entre ces substances et justifie que leur influence sur l'évolution des bactéries soit envisagée, dans son ensemble, au cours de ce Colloque.

Que les antibiotiques aient transformé l'aspect des maladies infectieuses, c'est là une notion qui s'impose aujourd'hui, comme celle de la rupture des équilibres microbiens qu'elles provoquent, et l'apparition d'infections et de parasitoses liées à la prévalence de certaines espèces.

Le rapport de Fasquelle envisage parfaitement ces problèmes sous l'angle général de l'évolution des êtres vivants, tandis que Chabbert s'attache aux questions relatives à l'évolution des populations bactériennes en rapport avec la résistance aux antibiotiques et aux problèmes génétiques qu'elles soulèvent.

Dans le cadre plus limité de l'action des antibiotiques sur les

bacilles tuberculeux, Canetti étudie les modifications des populations bactériennes dans les foyers tuberculeux créés expérimentalement chez l'animal ou survenus spontanément chez l'homme et en tire de précieuses indications pour le traitement et la prophylaxie de la tuberculose humaine. Rist et Kreis s'attachent, par contre, à l'étude de caractères particuliers des bacilles tuberculeux résistants à l'isoniazide et de leur pouvoir pathogène.

Il est certain que la découverte en 1953 par Middlebrook et Cohn, par Barnett, Bushby et Mitchinson, de l'atténuation de la virulence de ces bacilles pour le cobaye est une notion d'une importance théorique considérable. On conçoit qu'elle ait suscité d'importants travaux. Le fait, en lui-même, est d'un grand intérêt, car il offre à l'expérimentateur la faculté de modifier rapidement ou progressivement la virulence d'une espèce microbienne, d'en étudier le comportement chez l'animal et d'apprécier ainsi les différents facteurs qui régissent l'agression bactérienne et la résistance de l'hôte à l'infection.

Le fait que, chez le cobaye, on assiste à la régression puis à la guérison spontanée des lésions provoquées par les bacilles tuberculeux résistants à l'isoniazide laisse à penser que ces bactéries, dont la croissance est souvent difficile sur les milieux artificiels, présentent une déviation de leur métabolisme qui les met dans des conditions impropres à leur multiplication dans les tissus animaux.

Le rapport très documenté de Kreis à ce sujet est plein d'enseignements.

Il ne semble pas cependant qu'on puisse expliquer entièrement l'atténuation du pouvoir pathogène par des déficiences enzymatiques liées à une sensibilité particulière au peroxyde d'hydrogène.

Nous savons aujourd'hui que l'activité catalasique des mycobactéries n'est pas proportionnelle à leur virulence ; des bacilles tuberculeux isoniazido-résistants, à faible pouvoir catalasique, peuvent être aussi virulents pour le cobaye que la souche classique H37Rv (Libermann) ; les mycobactéries atypiques, pathogènes pour l'homme et avirulentes pour le cobaye, sont résistantes à l'isoniazide et pourtant richement pourvues en catalase. Il en est de même pour les bacilles chromogènes saprophytes.

Des constatations analogues ont pu être effectuées par le titrage de la peroxydase sur les broyats bacillaires : les mycobactéries saprophytes en sont aussi largement munies que les mycobactéries pathogènes, bien qu'elles se montrent résistantes à l'INH et avirulentes pour le cobaye.

Ces remarques sont d'autant plus significatives que si l'augmentation de la résistance à l'isoniazide s'accompagne généralement d'une diminution de l'équipement enzymatique en catalase et en



peroxydase, les bacilles isoniazido-résistants n'en possèdent pas moins tous les cytochromes (*a*, *b*, *c*) des bacilles correspondants sensibles à l'INH, et que leur activité cytochrome-oxydasique est comparable (Andrejew et Tacquet).

D'ailleurs, il faut reconnaître que l'interprétation du résultat de ces recherches varie selon qu'on considère comme significatif tel ou tel degré de résistance et qu'on adopte tel ou tel animal d'expérience et tel ou tel mode d'inoculation.

Ne perdons pas de vue que la virulence est un concept écologique (R. Dubos) qui exprime le pouvoir d'un microorganisme de survivre et de se multiplier, mais dans des conditions spécifiques très précises.

Les recherches de Noël Rist et de ses collaborateurs sont, à ce sujet, très instructives.

Il est cependant assez significatif de constater que, *mutatis mutandis*, les observations effectuées avec les bacilles des mammifères peuvent être reproduites avec les bacilles aviaires.

Ainsi que l'a récemment montré Tacquet, ces bacilles, naturellement résistants à l'isoniazide et pourvus en catalase et en peroxydase, perdent, avec l'accroissement de leur résistance à l'isoniazide, leur virulence pour la poule et le lapin, alors qu'ils conservent une certaine activité catalasique sous l'action de l'isoniazide. L'atténuation de la virulence des mycobactéries pathogènes est donc un fait très général ; mais il semble peu probable que des déficiences enzymatiques soient susceptibles d'expliquer, à elles seules, cette atténuation.

Faut-il la rechercher dans une modification du pouvoir antigénique allergisant ou immunisant ?

Des travaux récents ont montré qu'aucune particularité ne sépare significativement, à ce sujet, mycobactéries sensibles et mycobactéries résistantes à l'isoniazide.

Par contre, des recherches de Nasta, Pannesco et Georgesco (1958) semblent indiquer que l'action cytotoxique, à l'égard des polynucléaires, de l'extrait lipidique acétono-soluble de bacilles tuberculeux résistants à l'isoniazide est diminuée par rapport à celle des extraits provenant des bacilles sensibles homologues. Les bacilles isoniazido-résistants se montreraient aussi plus sensibles à l'action bactéricide du lysozyme.

Il y a là un vaste champ de recherches susceptibles d'apporter d'intéressantes précisions sur la pathogénie de l'infection bacillaire et sur le mécanisme de la résistance naturelle ou acquise des différentes espèces animales à l'égard des mycobactéries.

Je voudrais appeler encore l'attention sur un autre aspect du rôle des antibiotiques : leur action inductrice de formes microbiennes anormales.



Les recherches de ces dernières années nous ont apporté, dans ce domaine, des notions nouvelles d'un grand intérêt.

On observe de plus en plus fréquemment, depuis l'emploi des antibiotiques, diverses variations morphologiques des bactéries, dont la plus connue correspond au cycle L, si facile à provoquer, *in vitro*, par l'action hostile de la pénicilline.

De telles formations ont pu être observées, *in vivo*, avec *Proteus* et *S. typhimurium* (Carrère et Roux), avec *K. pneumoniae* et *E. coli* (Grasset et Bonifas).

Récemment (1956), Vigouroux, Hannoun et Levaditi ont obtenu en inoculant, aux embryons de poulet, du sang de lapins présentant une bactériémie expérimentale à *Str. viridans*, des formations granulaires, filtrables, susceptibles de se fixer à l'état de granule, ou de redonner naissance au germe dont elles sont issues.

Ces formes se montrent insensibles à des doses élevées d'antibiotiques et leur résistance aux écarts de température et au vieillissement est beaucoup plus grande que celle du germe normal. Elles ont été retrouvées, par hémoo-culture, dans des cas d'endocardite humaine à hémoculture négative.

Il est tentant de confronter ces constatations avec les expériences anciennes de Fontès, de Vaudremer et Hauduroy, sur les formes filtrables des mycobactéries ; avec celles, récentes, de Bassermann qui a observé, après Brieger, au microscope électronique, des formes abacillaires de mycobactéries qu'il considère, lui aussi, comme des formes L. Brieger a fait des observations comparables sur des coupes ultra-fines de tissu pulmonaire. Ces formes semblent pouvoir être assez facilement obtenues par l'action de bactériophages spécifiques (Froman, Hauduroy).

Ces observations sont à rapprocher de celles de Nègre et Bretey sur les formes incomplètement évoluées du bacille tuberculeux ; elles obligent aussi à reconsidérer les anciennes conceptions de Calmette sur le rôle des éléments filtrables du bacille tuberculeux dans la pathogénie et l'expression clinique de certaines formes de tuberculose, qui ne font pas leur preuve par la culture ou par les procédés usuels d'inoculation.

Elles doivent, croyons-nous, être prises en considération dans l'interprétation des recherches uniquement basées sur la présence ou l'absence, dans les lésions et les produits pathologiques, de formes bacillaires identifiables par leurs caractères de coloration ou de culture et par leur pouvoir pathogène.

Il ne semble pas douteux que les antibiotiques, en provoquant l'apparition de telles formations anormales, résistantes à leur action bactéricide, mais non dépourvues de virulence, contribuent à perpétuer l'infection sous une forme latente. Si l'immunité

(difficile et lente à obtenir, nous le savons, chez les sujets infectés et soumis aux traitements antibiotiques) n'est pas suffisante, une rechute de l'infection peut survenir.

On peut avancer l'hypothèse qu'elle est due à la persistance, dans les viscères ou les organes lymphatiques, de bacilles qui ont échappé (peut-être sous la forme granuleuse, résistante aux antibiotiques) à l'action bactéricide d'un traitement longtemps poursuivi.

Des observations privilégiées montre en effet, à l'évidence, que, chez l'homme, des sujets guéris d'une tuberculose cavitaire, à bacilles fortement résistants, peuvent présenter, après plusieurs années, une rechute à bacilles isoniazido-sensibles.

C'est tout le problème de la tuberculose latente, de la réinfection endogène et de l'immunité antituberculeuse qui se trouve ainsi posé à nouveau.

L'étude de l'action des antibiotiques permet d'atteindre les problèmes biologiques fondamentaux concernant les rapports entre bactéries et virus. Elle nous amènera, sans doute, à formuler de nouvelles hypothèses de travail.

Pascal n'a-t-il pas écrit : « Notre imagination cesse plus tôt de concevoir que la nature de fournir ? »

---

## L'ÉVOLUTION DE L'ASPECT DES INFECTIONS SOUS L'INFLUENCE DES ANTIBIOTIQUES

par Robert FASQUELLE.

(Laboratoire de Bactériologie, Faculté de Médecine, Paris)

L'évolution de l'aspect des infections n'est qu'un des chapitres du problème de l'évolution des êtres vivants, et il peut être intéressant d'essayer de replacer la première dans le cadre général du second.

### L'ÉVOLUTION DES ÊTRES VIVANTS

En 1796, Etienne Geoffroy St-Hilaire (qu'un décret de la Convention, quatre ans plus tôt, avait, à 20 ans, nommé professeur au Muséum) présente à la Société d'Histoire Naturelle une communication sur les « makis » [1] ; c'est dans l'exorde de cet écrit que figure, exprimée pour la première fois, la conception de Geoffroy St-Hilaire sur l'unité de composition des êtres vivants : dans l'échelle zoologique, les êtres vivants sont, tous, composés sur un plan unique, qui impose les mêmes connexions entre les mêmes organes ; seules changent les proportions du développement de ces organes les uns par rapport aux autres, qui peut les rendre propres à des fonctions différentes. De cette date à 1806, dans toutes ses études (poursuivies en Egypte, où il accompagnait Napoléon Bonaparte, comme à son laboratoire du Jardin des Plantes), on retrouve la même idée directrice, qui, chaque fois, s'affirme un peu plus : successivement l'aile de l'autruche [2], les appareils des poissons électriques [3], la tête osseuse des animaux vertébrés [4] sont prétextes à des démonstrations analogues ; mieux : dans ce dernier mémoire figurent une note et une phrase, qui révèlent la largeur de vues de Geoffroy St-Hilaire. La note signale qu'il a observé, dans les gencives d'un fœtus de baleine, des germes de dents, alors que l'on sait bien que les baleines adultes n'ont pas de dents. La phrase, la voici : « Les poissons, dans leur premier âge, sont dans les mêmes conditions, relativement à leur développement, que les fœtus de mammifères. » Plan unique de composition des êtres vivants, affirmation des rapports entre l'ontogénie et la



phylogénie : Geoffroy St-Hilaire [5], le premier, a apporté les preuves de l'évolutionnisme.

En 1809, paraît la *Philosophie zoologique* de Lamarck [6] ; la doctrine de la descendance généalogique des différentes espèces est poussée jusqu'à ses dernières conséquences ; mais, surtout, est recherchée l'explication des modifications qui aboutissent à la différenciation des caractères des espèces. Lamarck la trouve dans l'adaptation progressive des êtres aux conditions du milieu ambiant, ce qui implique la notion de la transmission héréditaire des caractères acquis. Le livre de Lamarck est d'ailleurs accueilli avec une profonde indifférence.

Cinquante ans plus tard (1859), l'*Origine des Espèces*, de Darwin [7], a, au contraire, un énorme retentissement ; tous les arguments en faveur de l'évolutionnisme sont réunis et admirablement présentés ; l'accent est mis sur l'importance des variations spontanées observées d'un individu à un autre ; la sélection naturelle exercée par le milieu, entraînant dans la lutte pour l'existence la persistance du plus apte et la disparition des autres, paraît être la raison majeure de l'évolution.

Certes, il fallut attendre 1900, et de Vries, pour que fût invoqué le rôle d'un autre mécanisme, celui des mutations brusques. Il n'en reste pas moins que, dès la première moitié du xix<sup>e</sup> siècle, avec Geoffroy St-Hilaire, Lamarck et Darwin, la doctrine de l'évolutionnisme des êtres vivants avait été solidement établie.

#### LA FIXITÉ DE L'ASPECT DES MALADIES INFECTIEUSES

L'époque pasteurienne de la découverte des microbes responsables des maladies infectieuses est très postérieure ; elle se situe schématiquement dans les vingt-cinq dernières années du même siècle (la découverte par Davaine de la première bactérie, la bactériidie charbonneuse, date de 1850, et son rôle pathogène n'est affirmé qu'en 1863).

Or, d'emblée fut reconnue aux microbes la qualité d'êtres vivants ; ils devaient donc obéir aux lois de l'évolutionnisme. Puisque la maladie infectieuse représente la lutte entre le microbe et l'organisme infecté, on ne voit pas comment cette lutte entre deux êtres vivants, chacun soumis aux lois de l'évolution, pourrait elle-même y échapper ; l'aspect des maladies infectieuses, par définition, ne peut être stable.

Et c'est un sujet d'étonnement de constater que, tout au contraire, l'opinion communément admise en médecine fut celle de la fixité de l'aspect des maladies infectieuses jusqu'à l'année 1930, pourrait-on dire. A cette date, Charles Nicolle apparut comme un révolutionnaire quand il parla de « la naissance, la vie

et la mort », « du destin » des maladies infectieuses [8]. Cette idée d'ailleurs n'entraîna nullement la conviction et fut considérée par beaucoup comme un jeu de l'esprit d'un savant, heureux d'abandonner quelques instants les données de la science pour un envol philosophique.

Voulez-vous que nous essayons de comprendre les raisons de cette croyance à la fixité de l'aspect des infections ?

Bactériologistes et médecins portent une part de responsabilité. Certes, dès 1880, Pasteur, quand il étudie le choléra des poules, est frappé par le fait qu'un germe vieilli à l'étuve ne détermine plus chez la poule qu'une maladie atténuée ; dès 1881, en cultivant la bactériémie charbonneuse à 42°5, il l'empêche de sporuler et réussit à atténuer sa virulence. Dans un cas comme dans l'autre, la preuve est donnée que sous l'influence des conditions ambiantes les caractères des germes *évoluent*, comme *évolue* par suite l'aspect de l'infection qu'ils déterminent. Mais la signification biologique du phénomène passe au second plan, derrière l'importance de son exploitation pratique, la vaccination.

Du côté des médecins, deux explications sont valables :

Dans l'immense confusion qui régnait depuis l'antiquité parmi les diverses pestes qui atteignaient l'homme, ils avaient, non sans peine, par les seules données d'observations précises, réussi à individualiser une série de syndromes cliniques. Et voilà que, grâce au microscope et aux techniques bactériologiques, à la plupart de ces tableaux de classification purement symptomatiques (et de valeur bien problématique) venait miraculeusement s'adapter la découverte d'un germe spécifique. Comment la grisurie du succès et la substitution aux miasmes mystérieux de bactéries microscopiques, particulières à chaque maladie et douées de figures reconnaissables, ne leur auraient-ils pas fait oublier la variabilité intrinsèque de ces petits êtres, et, par suite, celle des manifestations pathologiques qu'ils sont susceptibles de provoquer dans des organismes, eux-mêmes soumis à variations ?

Le mode même de l'instruction médicale joue aussi un rôle. C'est dans l'enthousiasme que se fait l'enseignement, plus au cours de conférences, où les maîtres sont à peine les aînés de quatre ou cinq ans de leurs élèves, que par consultation d'articles, de livres doués de permanence. Si l'aspect des maladies évolue, comment élèves et maîtres en auraient-ils la notion, puisque les « questions de médecine » évoluent dans le même temps.

Bientôt même, le rythme d'évolution de l'instruction s'accélérera encore ; grâce aux progrès de la technique, les Traités de Médecine participeront eux-mêmes au mouvement ; doués de feuillets à révision périodique, seule leur reliure est stable. Désirerait-on comparer l'aspect d'une maladie observée aujourd'hui à la description qui en était donnée cinq ans plus tôt, on ne le peut



plus : les pages d'un livre aujourd'hui sont aussi caduques que les feuilles d'automne ! Faute de point de repère, comment le médecin aurait-il conscience de la non-fixité de l'aspect des infections ? « De mémoire de rose, on n'a jamais vu mourir un jardinier », disait Fontenelle !



## ANTIBIOTIQUES ET ÉVOLUTION DE L'ASPECT DES MALADIES INFECTIEUSES

Aussi, malgré les constatations des premiers bactériologistes et les affirmations de Charles Nicolle, est-ce seulement l'avènement des antibiotiques qui imposa très généralement la notion de l'évolution de l'aspect des maladies infectieuses. L'évolution des maladies était cette fois si rapide que nul n'en pouvait douter.

Nous pourrions certes ici passer en revue un certain nombre de maladies infectieuses et essayer de décrire les diverses modifications que l'administration d'antibiotiques a suscitées dans l'évolution de chacune d'elles.

Au risque de faire taxer d'artifice un tel procédé, nous préférons envisager la question d'une manière plus générale et plus synthétique. Lorsqu'un organisme est en proie à une agression microbienne, une série de stades successifs peuvent être schématiquement distingués : le germe pénètre dans l'organisme ; il se multiplie dans les tissus ; il libère ses enzymes et ses toxines ; il suscite par ses antigènes l'élaboration d'anticorps ; il provoque parfois une immunité spécifique. C'est successivement au cours de chacune de ces étapes que sera étudié comment les antibiotiques ont modifié l'aspect évolutif de l'infection.

### ANTIBIOTIQUES ET RÉACTIONS CELLULAIRES NON SPÉCIFIQUES.

Les antibiotiques ont modifié l'aspect de ces réactions, d'abord dans le tissu conjonctif, puis au cours des étapes lymphatique et sanguine des infections.

*Antibiotiques et réaction inflammatoire.* — A la suite d'une rupture de la continuité de la peau ou des muqueuses, le germe se trouve dans le tissu conjonctif ; la pénétration de l'élément exogène provoque une réaction inflammatoire [9]. Histologistes et physiologistes, depuis longtemps, en ont précisé le tableau. Le tissu se met à vivre fébrilement. Une congestion locale se réalise ; les capillaires se dilatent, le sang artériel afflue, la pression intravasculaire s'élève ; les cellules endothéliales bordant le vaisseau s'écartent les unes des autres ; la perméabilité capillaire aug-



mente ; l'œdème inflammatoire est un exsudat, dont la constitution est proche du plasma ; le fibrinogène qui s'est répandu dans la substance fondamentale se coagule en un réseau fibrineux, qui limite le foyer dans lequel vont évoluer les cellules. Les unes proviennent des capillaires : les leucocytes, qui, jusque-là, circulaient avec les hématies, se rapprochent des parois ; leur migration est bientôt suivie de diapédèse : un pseudopode se glisse entre deux cellules pariétales ; puis le corps du polynucléaire suit ; désormais le leucocyte va évoluer dans la substance fondamentale. A l'intérieur même du tissu conjonctif, d'autres cellules paraissent se former *de novo*, ou plutôt on assiste à la métamorphose des histiocytes, et, à leur place, on voit apparaître des monocytes et des plasmocytes. La phagocytose est le caractère prépondérant de certaines de ces cellules : les polynucléaires (ou microphages de Metchnikoff) se dirigent vers les germes et essayent de les englober ; plus gros, les macrophages, représentés par les monocytes venus du sang ou nés sur place, s'attaquent aux particules plus volumineuses : débris cellulaires, polynucléaires chargés de germes, débordés dans leur action et en train de succomber.

L'issue de la lutte entre germes et organisme, au sein du tissu conjonctif, est essentiellement fonction de deux facteurs : d'un côté le nombre de germes en action, de l'autre l'efficacité de la réaction inflammatoire.

Certes, le nombre de germes dépend de l'intensité du contagé ; plus les germes d'emblée sont nombreux, plus ils risquent de déborder la capacité d'englobement des polynucléaires. Mais ce nombre est surtout en rapport avec la rapidité de la multiplication microbienne.

Les anciens auteurs distinguaient germes saprophytes et germes virulents. Si, disaient-ils, les germes saprophytes, pénétrant dans le tissu conjonctif, n'y déterminent, sauf exception qu'une inflammation transitoire, c'est que ces germes de la nature, attachés à vivre dans la terre, l'air ou les eaux, ne trouvent pas dans l'organisme les conditions de développement auxquelles ils étaient antérieurement accoutumés ; de même les germes commensaux de nos cavités naturelles, habitués à mener à la surface des muqueuses une vie ralentie, se trouvent surpris, lorsque brusquement un traumatisme leur fait franchir ces dernières ; avant qu'ils aient eu le temps de s'adapter, les uns comme les autres sont rapidement victimes de la phagocytose. Tout à l'opposé se présentent les germes virulents ; l'exaltation de la virulence est exploitée par les bactériologistes, quand, par des passages successifs chez des animaux de la même espèce, ils réussissent à rendre les germes capables de déterminer une infection mortelle, même à toute petite dose ; et le même mécanisme rend compte de la gravité, bien connue autrefois, des blessures des chirurgiens

au cours des interventions septiques ou de l'effroyable pronostic des fièvres puerpérales dans les maternités.

A cette interprétation, l'étude *in vivo* de la courbe de croissance des germes est venue apporter une confirmation précieuse. Lorsqu'un germe est, en tube,ensemencé dans un nouveau milieu, une phase de latence existe d'abord, au cours de laquelle on n'assiste à aucune augmentation de l'opacité de la culture ; il est probable qu'à ce moment le germe subit des modifications qui vont le rendre apte à pulluler dans le milieu qui lui est offert. Puis s'installe la phase dite logarithmique, au cours de laquelle la culture croît à taux constant, suivie de la phase stationnaire où la culture ne s'accroît plus, enfin de la phase de décroissance, provoquée par une certaine lyse microbienne. La succession de ces phases, très schématiquement, correspondrait à la présence, puis à l'appauvrissement, enfin à la disparition des métabolites nécessaires au germe. Or si, au lieu d'ensemencer un germe qui a, dans le milieu précédent, accompli toutes ses phases et se trouve donc en état de stase, ou plus exactement en phase de décroissance, on s'adresse au contraire à un germe prélevé en phase logarithmique, c'est-à-dire en pleine période de multiplication à taux constant, on constate que, aussitôt transféré dans un milieu neuf semblable, le germe continue à se multiplier très vite, avec suppression complète de la phase de latence.

Le germe saprophyte est analogue au germe prélevé en phase de décroissance ; introduit dans l'organisme, c'est au cours de sa phase de latence qu'il est englobé et détruit par les phagocytes. Le germe virulent, au contraire, est un germe en phase logarithmique, qui, retrouvant chez le nouveau sujet un milieu auquel il est déjà adapté, continue à se multiplier au même rythme, sans marquer aucun temps d'arrêt ; il risque, par suite, de déborder les capacités réactionnelles de l'organisme.

Concernant le nombre de germes en action *in vivo*, le point intéressant apporté par les courbes de croissance *in vitro* est que la notion quantitative est beaucoup plus potentielle que réelle ; elle dépend de l'état du germe au moment de son inoculation ; et cet état actuel est directement fonction du passé du germe et résume toute son histoire antérieure.

Envisageons maintenant l'efficacité de la réaction inflammatoire. Plus celle-ci est précoce et intense, et plus les germes, quel que soit leur nombre, risquent évidemment d'être bloqués. Les classiques insistaient sur le rôle joué par la congestion vasculaire, tenant sous sa dépendance à la fois l'afflux des polynucléaires et les modifications cellulaires locales ; de même invoquaient-ils les conditions de terrain : influence de l'âge du malade, aspects différents de l'inflammation chez le vieillard et l'enfant, les sujets débilisés ou tarés.

Les études physio-pathologiques permirent une analyse plus fine des phénomènes ; ainsi fut reconnu le rôle des réflexes vasomoteurs à petite ou longue distance, faisant participer à l'inflammation des territoires plus ou moins étendus et déterminant des variations de la perméabilité capillaire. De même fut invoquée la participation des glandes endocrines et de leurs sécrétions. Mais, qu'il s'agisse du système neuro-végétatif [10] ou des glandes endocrines [11], la notion la plus intéressante qui fut mise en évidence est la participation de l'organisme tout entier à la réaction inflammatoire locale : son intensité est réglée par la tonalité globale de la réactivité du sujet, c'est-à-dire par l'état de l'organisme au moment de la pénétration du germe ; et cet état actuel est directement fonction du passé de l'organisme ; il résume toute son histoire antérieure.

Rôle du passé du germe sur sa multiplication, rôle du passé de l'organisme sur sa réactivité propre, tels sont donc les deux facteurs opposés qui paraissent régler l'évolution actuelle du processus infectieux initial dans le tissu conjonctif.

En modifiant cette évolution, les antibiotiques ont permis de mieux analyser ces deux facteurs.

Sur le nombre de germes, l'effet des antibiotiques est évident : bloquant les microbes dans leur anabolisme, ils s'opposent à leur multiplication. De même que, *in vitro*, l'antibiotique transforme la courbe de croissance en une droite de bactériostase, de même *in vivo* l'antibiotique limite le nombre de germes en action à celui qu'ils atteignaient lors du contag. Parfois même, si l'antibiotique ou les antibiotiques associés sont doués d'un effet bactéricide, ils le réduisent à un taux inférieur. De toute façon, l'effet de l'antibiotique est donc de placer les germes virulents précisément dans l'état qui est celui des germes saprophytes ; il supprime chez les premiers les potentialités de développement que leur passé leur avait fait acquérir. En un mot, les antibiotiques confirment la notion de virulence, en la neutralisant.

Au sujet de la connaissance de la réaction inflammatoire, le jeu des antibiotiques n'est pas moins intéressant ; fournissant à l'observateur le moyen de stopper la multiplication microbienne à tout moment, ils permettent de mieux saisir, à l'état pur, le mécanisme du processus infectieux.

Si l'antibiotique est administré *au moment* même où les germes pénètrent dans le tissu conjonctif, ces derniers, maintenus en phase de latence, ne donnent lieu à aucune manifestation ; ils sont, en silence, résorbés par les phagocytes ; ce processus cellulaire fait partie des aléas auxquels est soumis un organisme vivant au sein du milieu extérieur et dont l'issue favorable, sans aucune traduction clinique, est précisément la condition même du maintien de l'état dit « de bonne santé apparente ». Facilement



reproduite par l'expérimentation sur l'animal, cette éventualité est aussi celle rencontrée par les chirurgiens lorsque, au cours d'une intervention chirurgicale (pneumonectomie, chirurgie des cancers digestifs, interventions sur la prostate), ils ont recours aux antibiotiques à l'instant même où les germes exogènes ou endogènes risquent d'être introduits dans le tissu conjonctif. D'emblée, la maladie est décapitée ; ou, plutôt, il n'y a pas de maladie.

Bien plus fréquente est la seconde éventualité : l'antibiotique est mis en action *après* que le processus infectieux est déclenché ; certes, cette fois encore, les microbes sont stoppés, voire détruits. Toutefois, le pronostic ne dépend plus uniquement du germe causal, mais du stade physio-pathologique déjà atteint ; si une collection purulente est constituée, elle devra être évacuée, le pus fût-il stérile. Plus intéressant est le cas où le processus inflammatoire, primitivement infectieux, continue à évoluer par lui-même ; à partir du foyer initial, sont déterminées des réactions vaso-motrices à petite et même à longue distance ; des troubles circulatoires en résultent dans d'autres territoires, causes de multiples manifestations morbides ; on saisit ici le mécanisme de la maladie auto-entretenu. Contre ces manifestations secondes, les antibiotiques, bien sûr, sont dépourvus de tout effet ; et l'on comprend au contraire l'action de la cortisone qui, étouffant les réactions cellulaires (probablement par action directe sur les cellules) limite d'autant leur retentissement sur l'état de tout l'organisme. Selon le nombre de germes responsables de l'inflammation initiale, selon l'intensité des phénomènes réactionnels que celle-ci provoque, tous éléments qui, mêlés les uns aux autres, confèrent à la maladie infectieuse ses multiples aspects, on conçoit l'action différente selon les cas de l'antibiotique seul, de l'antibiotique associé à la cortisone, ou même de cette dernière administrée seule : autant cette pratique peut être dangereuse si le nombre des germes est important, car elle risque de favoriser leur diffusion, autant, au contraire, si les germes étaient rares et si les manifestations de la maladie infectieuse résultaient surtout de phénomènes réflexes entretenus par le foyer inflammatoire initial, peut se comprendre l'action dite anti-infectieuse de la cortisone.

Enfin plus passionnante est peut être encore l'étude de l'effet de l'antibiotique, s'il est administré à *titre préventif*.

Pendant un temps, certaine publicité essaya de susciter l'usage quotidien de pastilles d'antibiotiques, sous le prétexte de prévenir la pullulation des germes buccaux ; l'effet non prévu est en réalité la modification de la flore buccale avec remplacement des germes sensibles à l'antibiotique par des germes sur lesquels il est dépourvu d'action ; en cas de lésion de la muqueuse, en quelque

endroit de la cavité buccale que ce soit (gencives, plancher de la bouche ou région amygdalienne), ce sont ces germes résistants qui risquent de proliférer et d'emblée le médecin est désarmé contre eux.

Très analogue semble le processus qui permet aux levures et aux champignons de dominer la scène ; ils étaient maintenus à l'état d'unités à la surface des muqueuses par la concurrence des germes banaux. Un traitement prolongé par chloramphénicol ou tétracycline a été prescrit pour des raisons diverses : espoir de juguler une staphylococcie cutanée rebelle, d'éviter la répétition d'amygdalites streptococciques, de prévenir la survenue d'un rhumatisme articulaire aigu ; les germes banaux ont disparu ; levures et champignons, au contraire, ont trouvé l'espace vital qui leur manquait. Ce qu'on ne saisit pas, c'est pourquoi ces parasites se trouvent acceptés dans le tissu conjonctif des voies aériennes ou digestives.

A cet égard un rapprochement est à faire avec ce qui est maintenant souvent observé en oto-rhino-laryngologie. Un enfant présente une otite catarrhale, due vraisemblablement à quelque microbe banal : staphylocoque, streptocoque ou pneumocoque. Dans l'idée d'éviter une complication, le médecin met en jeu les antibiotiques. Or, parfois la complication survient néanmoins ; mais c'est *Pseudomonas aeruginosa* ou un *Proteus* qui sont retrouvés à l'examen bactériologique, sur lesquels les antibiotiques sont dépourvus d'effet. Tout se passe comme si pyocyanique ou *Proteus*, germes plus saprophytes que virulents, prenaient, dans le processus infectieux, le relais des cocci d'origine.

C'est peut-être l'étude des complications pulmonaires de la grippe, faite en 1948, au moment où les cliniciens ne disposaient encore que de la pénicilline, qui fournit l'expérience cruciale. Cette fameuse pénicilline, il leur parut logique de l'administrer chez tous les grippés pour prévenir la survenue des complications pulmonaires. Ils déchantèrent rapidement. Les complications pulmonaires survenaient avec la même fréquence ; mais au lieu des pneumocoques ou streptocoques habituels, ce sont les bacilles de Pfeiffer qui étaient en jeu. La conclusion pratique s'imposa rapidement ; il valait mieux ne pas administrer la pénicilline préventivement, mais attendre les éventuelles manifestations pulmonaires ; si celles-ci survenaient, du moins était-on armé contre pneumocoques et streptocoques, alors qu'on ne possédait pas, à l'époque, d'antibiotique actif contre les bacilles de Pfeiffer. Mais les données physio-pathologiques fournies par cette observation privilégiée ont une portée très générale. L'explication proposée est la suivante : le virus grippal détermine, par lui-même, des lésions de congestion et d'œdème hémorragique sur les voies respiratoires ; c'est cet œdème hémorragique qui,

apportant de précieux facteurs de croissance pour les bactéries, fait le lit des complications microbiennes ; ainsi est matérialisé un état pro-infectieux polyvalent, précédant la pullulation de tel ou tel germe.

L'étude des modifications de l'aspect des infections sous l'influence des antibiotiques, au stade de la réaction inflammatoire conjonctive, apparaît donc pleine d'intérêt ; elle fait mieux comprendre le processus initial et son extension. Depuis la découverte des microbes à la fin du XIX<sup>e</sup> siècle, il était habituel de reléguer très à l'arrière plan le rôle des conditions de terrain : au plus, parlait-on, à ce sujet, des causes secondes des infections, entendant que le microbe jouait le rôle essentiel et que le terrain n'intervenait que secondairement. Or, si nous avons d'abord bien vu qu'après son déclenchement, le processus inflammatoire était susceptible de s'entretenir et de s'étendre par lui-même, ne voilà-t-il pas maintenant que nous constatons que la pullulation du germe est précédée de la réalisation d'un terrain pro-infectieux, que l'incertitude s'insinue dans notre esprit sur la hiérarchie des causes relevant du germe infectant ou de l'organisme infecté ! N'est-il pas paradoxal que ce soit précisément l'intervention des antibiotiques, c'est-à-dire des médicaments doués d'une activité spécifique sur les germes, qui révèle l'importance de cet état pro-infectieux lui-même non spécifique !

*Antibiotiques et réactions lymphatiques.* — Si la virulence des germes déborde les capacités de la réaction inflammatoire conjonctive, entre alors en jeu l'étape lymphatique de l'infection. L'étude des modifications de son évolution par les antibiotiques permet d'en mieux comprendre le développement.

L'exemple le plus net est celui de la lymphangite du membre supérieur, secondaire à une piqûre septique du doigt. Le sujet a d'abord présenté une petite inflammation locale de la pulpe, dont il ne s'est pas inquiété. Des trainées rouges de lymphangite sont maintenant nettes ; d'heure en heure, elles gagnent tout l'avant-bras, tandis que de gros ganglions douloureux sont perceptibles dans l'aisselle ; la fièvre est élevée ; le malade est agité et anxieux. Une injection de pénicilline : une heure plus tard, la fièvre est tombée, le sujet repose tranquille ; il n'y a plus trace de lymphangite sur le bras ; les ganglions sont encore un peu tuméfiés ; la rougeur de l'avant-bras pâlit. On continue la pénicilline. Le lendemain matin, le malade est guéri, à part une petite rougeur au point de la blessure d'origine.

La rapidité du déroulement de l'effet antibiotique dans cette lymphangite superficielle du membre supérieur qui se développe sous nos yeux permet de comprendre ce qui se passe dans tous



les processus infectieux lymphatiques, qu'ils soient superficiels ou profonds. Lorsque les bactéries sont très virulentes, leur phagocytose par les polynucléaires est incomplète ; nombreux sont ceux qui succombent ; les macrophages englobent polynucléaires en lyse et microbes ; ces derniers, encore vivants, sont ainsi apportés dans les ganglions les plus proches, voire, si la réaction de ces derniers est dépassée, dans les relais ganglionnaires successifs. L'activité de toute l'aire lymphatique est intense ; les cellules endothéliales tapissant les vaisseaux lymphatiques et les parois des sinus ganglionnaires se gonflent ; les macrophages apparaissent nombreux ; en même temps, les vaisseaux ganglionnaires sanguins se dilatent, les nodules lymphoïdes s'hypertrophient. Les germes, qui avaient échappé à une première phagocytose, risquent d'être fixés, englobés, détruits ; c'est le phénomène le plus visible ; mais il est probable que ne sont pas moins importants les phénomènes de résorption des constituants des germes, qui marquent leur empreinte sur la physiologie ultérieure des cellules ganglionnaires. Or qu'advient-il quand l'antibiotique est mis en jeu ? Nous avons vu avec quelle rapidité est interrompue la réaction lymphatique ; c'est certes un phénomène heureux, en ce sens que les germes ne risquent pas de pénétrer plus avant dans l'organisme ; mais sont aussi, du même coup, supprimées les modifications cellulaires, susceptibles de fournir à l'organisme le moyen de résister à de telles infections dans l'avenir.

Si donc, dans le cas de la lymphangite accidentelle, secondaire à une plaie septique, comme d'ailleurs chaque fois que la vie du sujet paraît en jeu, l'indication du traitement antibiotique est évidente, il n'en est peut-être pas de même pour toutes les réactions ganglionnaires secondaires à de petites infections ; nous avons surtout en vue les angines aiguës de l'enfance. Autant des angines à répétition très fréquentes font courir à coup sûr des dangers, et tout doit être fait pour les éviter, autant il n'est peut-être pas indiqué de mettre en jeu un traitement antibiotique chaque fois que survient une angine ; avant l'ère antibiotique, elles guérissaient en cinq à six jours ; les antibiotiques n'ont pas réduit sensiblement le temps nécessaire de séjour à la chambre : ils inhibent ou limitent le plus souvent la réaction ganglionnaire ; il n'est pas sûr que cette inhibition soit tellement souhaitable. Pas plus que l'amygdalectomie systématique chez tous les enfants n'est, semble-t-il, justifié le traitement antibiotique systématique de toutes les angines aiguës.

*Antibiotiques et septicémies.* — Un degré de plus, et les germes pénètrent dans le sang ; ainsi débute la phase septicémique de l'infection.

Au mot septicémie, les anciens auteurs, s'inspirant des obser-

vations de Davaine et de Pasteur sur le nombre considérable de bactériidies retrouvé dans le sang des animaux charbonneux peu de temps avant leur mort, donnaient la signification de pullulation des germes dans le sang. Dès 1927, Gastinel et Reilly [42], dans leur rapport au XIX<sup>e</sup> Congrès de Médecine, avaient montré comment les constatations de Schottmüller [43] et les études physio-pathologiques obligeaient à renoncer à cette notion, qui avait l'inconvénient d'envisager le sang comme une sorte de milieu de culture passif, analogue à celui contenu dans un tube ; ceci n'est vrai qu'à la période agonique ou chez le cadavre, mais non chez le sujet en pleine vie, où le sang est un tissu vivant, avec toutes les réactivités que lui confère ce caractère. Loin de pulluler dans le sang, les germes n'y subissent qu'un transit éphémère, comme le révèlent les hémocultures répétées, permettant d'assister, au cours des septicémies, à des différences considérables dans le chiffre des germes évalué par numération. Car ce nombre de germes est fonction à la fois du foyer d'ensemencement, à partir duquel ils sont lancés dans la circulation, et des phénomènes de bactériopexie, exercés par les cellules du tissu réticulo-endothélial.

Le foyer d'ensemencement est-il le foyer lymphatique initial ? C'est le cas des ganglions mésentériques dans la fièvre typhoïde ; la décharge est à peu près continue, mais limitée. Bien plus souvent, c'est un foyer second thrombo-phlébitique, qui est responsable de l'essaimage sanguin. Sur le mécanisme de l'installation de cette thrombo-phlébite, les discussions ont été nombreuses. Les anciens auteurs pensaient que les germes lancés dans la circulation pouvaient se fixer sur l'endothélium veineux sain et y provoquer inflammation et thrombose. Mais les recherches expérimentales sur l'animal, consistant en la simple injection intraveineuse d'une culture bactérienne, si elles permettent de constater la disparition rapide des germes, ne réussissent pas à reproduire la thrombo-phlébite. Or Talke avait montré qu'on pouvait expérimentalement provoquer la formation d'un thrombus par mise en contact d'une culture microbienne avec la paroi externe de la veine. Les recherches de Reilly et de Grislain [44] ont prouvé que le dépôt de toxines microbiennes ou de substances de désintégration cellulaire sur l'adventice de la veine provoque, de dehors en dedans, une irritation des fibres nerveuses, une endothéliite avec desquamation et œdème, puis une multiplication endothéliale qui aboutit à la formation d'un thrombus. Injecte-t-on alors chez l'animal ainsi préparé des germes dans le sang ? Cette fois, ils colonisent dans le caillot préexistant et, le désintégrant, provoquent la formation d'embolies septiques. Ainsi s'expliquerait, vérifié par l'hémoculture, l'ensemencement discontinu du sang, mais massif à certains moments.

Lancés dans la circulation, les germes en disparaissent rapidement : c'est qu'ils sont la proie des phagocytes ; annexée à la circulation sanguine, comme les ganglions le sont à celle de la lymphe, la rate exerce un effet de filtration important ; le rôle du foie est analogue, et l'action péxique des cellules de Kupffer est bien connu. De plus, toutes les cellules endothéliales des parois vasculaires dans tout l'organisme, participent à cette action de fixation et d'englobement des microbes : en définitive, cette bactériopexie aboutit soit à la lyse des germes, soit à la formation d'une nouvelle thrombose infectieuse, qui évolue alors pour son propre compte et est cause de nouveaux ensemençements du sang.

Ainsi, dans la réalisation de l'état septicémique, apparaît clairement la double responsabilité, d'une part du jeu des germes, d'autre part des réactions de l'organisme.

La rapidité de reproduction des microbes, c'est-à-dire leur virulence, imprime à l'évolution de la maladie une allure aiguë, suraiguë ou au contraire lente et traînante ; la nature des germes en cause tient sous sa dépendance l'aspect des foyers métastatiques ; ainsi les septicémies à germes pyogènes se caractérisent par l'apparition successive de foyers suppurés multiples (pyohémies des auteurs classiques).

Mais ce sont les réactions de l'organisme qui règlent l'intensité des signes généraux communs à toutes les septicémies : la fièvre est tantôt continue, plus souvent rémittente avec des ascensions thermiques passagères plusieurs fois répétées au cours de la même journée, ou encore intermittente avec des accès survenant à des intervalles de plusieurs jours. Les frissons accompagnent la fièvre et sont suivis de sueurs. En opposition avec l'hyperthermie centrale est souvent noté un abaissement de la température périphérique. La tension artérielle est basse. Les signes nerveux sont toujours importants : céphalée, signes d'excitation, méningisme, convulsions, puis souvent adynamie s'accompagnant d'obnubilation et de stupeur. La respiration est superficielle. Les urines sont rares. La splénomégalie est la preuve palpable de la réaction du système réticulo-endothélial. Or, le degré de ces réactions est facteur de la tonalité globale de réactivité de tout l'organisme, c'est-à-dire modulé par le système neuro-végétatif uni au système endocrinien.

C'est dire que la bactériologie seule est impuissante à définir l'état septicémique ; la présence des germes dans le sang est un critère insuffisant ; dans la bactériémie, les résultats de l'hémoculture peuvent être exactement comparables à ce qu'ils sont dans les septicémies ; ce qui la caractérise, c'est sa latence, sa non-traduction clinique, son absence de retentissement sur l'état général ; au contraire, la septicémie, c'est la présence de germes



dans le sang, accompagnée de signes généraux graves ; il n'y a de définition complète de la septicémie que clinique.

En modifiant l'évolution des septicémies, les antibiotiques sont venus confirmer ces notions ; neutralisant la multiplication microbienne, ils ont permis, dans l'état septicémique, de préciser ce qui revient à la multiplication microbienne et ce qui y est surajouté par la réaction de l'organisme. L'analyse à cet égard de l'effet des antibiotiques dans deux types différents de septicémies, la septicémie à *Spherophorus funduliformis* et les septicémies endocarditiques, nous permettra de nous faire mieux comprendre.

Avant l'avènement des antibiotiques, Lemierre et son école avaient réussi à préciser l'évolution de la septicémie à *funduliformis* tant du point de vue clinique que physio-pathologique [15].

A la suite d'une angine banale ou d'une amygdalite phlegmonneuse fétide, brutalement un frisson violent prolongé, une élévation de la température à 40° annoncent la constitution d'une infection générale grave. La fièvre est continue ou intermittente ; les frissons se répètent. Le malade est prostré. L'hémoculture anaérobie en gélose molle permet d'isoler le *funduliformis*. C'est alors que surviennent des accidents nouveaux : un point de côté violent, une dyspnée brutale, une expectoration hémoptoïque. D'autres manifestations sont prochaines : des arthrites, des localisations rénales, spléniques, cérébrales, jusqu'à l'issue fatale.

La succession des lésions paraissait pouvoir être ainsi reconstituée : à l'occasion d'une lésion muqueuse, *Sph. funduliformis*, commensal de la cavité buccale, pénètre dans le tissu conjonctif péri-amygdalien et y assure la formation de micro-abcès. Par irritation de dehors en dedans d'une veine voisine, afférente du tronc jugulaire, est déterminée la formation d'une thrombose ; secondairement, par les lymphatiques péri-vasculaires, le germe colonise dans le thrombus ; il s'y développe, et, par son action protéolytique, le désintègre. Lancée dans la circulation, par la veine cave supérieure, l'embolie septique provoque l'infarctus pulmonaire ; dans ce nouveau foyer, le *funduliformis*, par le même mécanisme, réalise de nouvelles atteintes thrombo-phlébitiques, d'où de nouvelles embolies septiques, dans le domaine, cette fois, de la grande circulation. Le cercle vicieux des ensemencements successifs est désormais inexorable, cause de l'aggravation de l'état général et de l'évolution fatale.

Dès l'apparition de la pénicilline, le pronostic de la septicémie à *funduliformis* a été modifié du tout au tout ; quel que soit le moment de l'évolution de la maladie auquel est administré l'antibiotique, l'aspect du malade change en quelques heures, les signes généraux s'amendant, et la guérison se confirme en quelques jours. C'est que la pénicilline, en inhibant le *funduliformis*, rompt le cercle vicieux des trombo-phlébites successives ; et

comme le germe, de par son effet protéolytique, ne peut s'enkyster et vient au contraire, pour ainsi dire, s'offrir de lui-même à l'antibiotique, il ne peut, en nul point de l'organisme, lui échapper. Ainsi a été apportée la preuve, par la pénicilline, de la responsabilité prépondérante et presque exclusive du germe dans cette septicémie.

Le problème des septicémies endocarditiques hante, depuis longtemps, l'esprit des médecins et des bactériologistes. Avant l'ère antibiotique, il était classique de distinguer : les endocardites aiguës primitives, où la lésion de l'endocarde n'était qu'un incident surajouté au cours d'une septicémie à grand fracas, rapidement mortelle, le plus souvent d'origine streptococcique, et les endocardites subaiguës secondaires : parmi celles-ci était surtout individualisée l'endocardite maligne d'Osler, survenant chez un sujet atteint d'une lésion cardiaque antérieure, rhumatismale ou congénitale ; un état fébrile continu, ne dépassant pas 38 ou 38°5, alternait avec des poussées thermiques irrégulières, accompagnées de frissonnements ; l'anémie était importante, la splénomégalie constante, s'accroissant par à-coups ; une éruption purpurique pouvait se manifester, des nodosités érythémateuses douloureuses apparaître de façon éphémère à la pulpe des doigts ; l'évolution aboutissait inexorablement à la mort, hâtée par la survenue d'embolies multiples : rénales, spléniques, cérébrales, ophthalmiques, ou même des membres. Pratiquée au moment des accès thermiques, l'hémoculture mettait en évidence souvent *Streptococcus viridans*, parfois un entérocoque, bien plus rarement quelque autre germe. À côté de l'endocardite d'Osler, on décrivait l'endocardite subaiguë des cardiaques, dont l'aspect clinique était assez voisin, mais où l'hémoculture était négative, et l'endocardite du rhumatisme cardiaque évolutif, que rien ne distinguait de la précédente, hormis la coïncidence de poussées douloureuses articulaires, rencontrées d'ailleurs également au cours de l'endocardite d'Osler.

Les traitements antibiotiques ont considérablement modifié l'évolution des endocardites ; entrepris au début des endocardites aiguës, ils en assurent la guérison, ou les transforment en endocardites à évolution lente ; mis en action dans les endocardites à évolution lente et à hémoculture positive (si les doses employées sont très fortes), ils en permettent souvent la guérison ; mais parfois, lorsque est obtenue et confirmée la stérilisation du sang, l'évolution ne s'en poursuit pas moins vers la mort, avec apparition d'une insuffisance cardiaque et même la survenue d'accidents emboliques. Enfin, dans les endocardites à hémoculture négative, les antibiotiques, en règle, s'avèrent inefficaces ; on sait, par contre, que la cortisone, sous couvert d'antibiotiques, a permis la guérison de cas jusque-là apparemment désespérés. Ainsi,

comme le disent Laporte, Macrez et Contamin, les cloisons craquent de toutes parts ; les distinctions sont artificielles et vaines entre formes primitives et secondaires, de même qu'entre formes aiguës et subaiguës [16].

Peut-on dès lors essayer de revoir l'ensemble de la question des endocardites ? Les expériences de Laplane et Tournier [17] semblent y inviter. Ils ont en effet obtenu chez le lapin la reproduction expérimentale d'endocardites, en déterminant d'abord un traumatisme cardiaque, puis en injectant par voie intraveineuse des germes divers, mais à doses comparables à celles qui sont en jeu chez l'homme. L'étude histologique leur a fait saisir les stades successifs de la lésion endocarditique ; elle se traduit d'abord par une tuméfaction et une multiplication des cellules endothéliales, qui peuvent même laisser flotter dans la cavité cardiaque de longs pseudopodes ; moins de douze heures après l'injection microbienne, quelques germes sont retrouvés collés à des cellules tuméfiées ou phagocytés par elles ; puis un important œdème se manifeste, tandis que les germes se multiplient dans le conjonctif sous-endothélial où apparaissent des macrophages ; au bout de vingt-quatre heures, les lésions inflammatoires ont envahi toute la valvule ; la fibrine, qui s'était agglomérée sur l'endothélium, forme une végétation volumineuse, où les germes prolifèrent à l'abri des leucocytes ; une fois constitué, le foyer fibrineux septique est à l'origine des accidents emboliques, marquant l'évolution de la septicémie vers la mort.

La réussite de la reproduction expérimentale des endocardites est importante en soi. Sera-t-il permis d'ajouter que les résultats de ces expériences nous suggèrent une nouvelle interprétation de l'entretien de la maladie à partir du foyer endocarditique ? Un double processus paraît en action : d'une part, en effet, est en jeu le germe, responsable de l'essaimage d'une poussière embolique microbienne, qui risque de déterminer une endothéliite vasculaire, infectieuse, plus ou moins généralisée ; mais, d'autre part, le simple brassage du sang sur la valvule est capable de dilacérer la végétation et de la fragmenter, c'est-à-dire de provoquer des embolies et d'entretenir mécaniquement l'inflammation.

Dans les endocardites aiguës, le processus infectieux est prépondérant ; les antibiotiques le suppriment. Dans les endocardites à évolution lente et hémoculture positive, les deux processus coïncident ; les antibiotiques, en stérilisant la végétation, sont parfois incapables, à eux seuls, d'assurer la guérison. Enfin, dans les endocardites à hémoculture négative, jouerait isolément le processus mécanique ; après avoir amorcé l'inflammation fibrineuse valvulaire, le germe spontanément aurait disparu. Il s'agirait en somme d'une endocardite maligne auto-stérilisable et auto-



entretenue, sur laquelle évidemment les antibiotiques seraient dépourvus de toute action.

Ainsi les endocardites nous offriraient-elles la meilleure occasion de constater que l'évolution de l'aspect des infections sous l'influence des antibiotiques oblige parfois à en repenser la physiopathologie et à bousculer les cadres nosologiques dans lesquels nous étions accoutumés à les ranger.

#### ANTIBIOTIQUES ET EFFETS DES ENZYMES SPÉCIFIQUES.

Qu'il s'agisse des étapes conjonctive, lymphatique ou septicémique, on a vu comment les antibiotiques, en annihilant la multiplication microbienne, font apparaître au contraire la part qui, dans le processus infectieux, revient aux réactions non spécifiques de l'organisme ; mais, dans certains cas aussi, grâce aux antibiotiques, on peut saisir ce qui, dans le déroulement de l'infection, relève non plus directement de la virulence des germes, mais du jeu de leurs enzymes : la septicémie à *Welchia perfringens* en apporte le témoignage.

Son aspect typique et son évolution avaient été minutieusement décrits par les cliniciens [18]. Un ou deux jours, parfois quelques heures après les manœuvres abortives, la patiente, qui ressent des douleurs abdominales plus ou moins vives, est prise brusquement d'un grand frisson, avec élévation de la température à 40°. D'emblée, chez cette femme qui présente des signes d'avortement, le tableau de l'ictère hémolytique suraigu fébrile est réalisé ; la malade est prostrée, adynamique, en proie à une violente dyspnée ; elle vomit (vomissements bilieux ou hémorragiques) ; elle accuse une diarrhée profuse. Le poulx est imperceptible, la tension effondrée. L'ictère s'accroît d'heure en heure ; un érythème scarlatiniforme peut s'y associer, donnant aux téguments, cyanosés par ailleurs, une couleur bien spéciale, « mélange des teintes jaune rougeâtre et bleuâtre » (Lemierre). La malade n'urine pas. Le sondage ramène quelques gouttes d'une urine noirâtre, rouge porto, dans laquelle on peut mettre en évidence des sels et des pigments biliaires, de l'albumine et une forte quantité d'hémoglobine. L'examen du sang révèle une anémie intense, une hyperleucocytose à polynucléaires neutrophiles ; la résistance globulaire est très diminuée. L'azotémie est élevée : 1,5 g et plus.

Si le diagnostic peut être soupçonné par la clinique, seule la bactériologie permet de l'affirmer ; tantôt c'est l'hémoculture en anaérobiose qui, pratiquée au cours d'un frisson, permet d'isoler le germe ; à son défaut, la culture du culot urinaire en gélose Veillon réussit souvent à mettre en évidence le *perfringens* ; ou encore c'est l'ensemencement des lochies fétides qui révèle la présence du germe, au départ de l'infection.

Le seul traitement à la disposition des auteurs classiques était l'hystérectomie ; elle était logique, puisqu'elle supprimait le foyer infectieux initial, où la pullulation des germes était favorisée par la rétention des caillots et des débris placentaires ; mais elle restait inefficace, car elle ne pouvait supprimer l'ensemencement du sang à partir des foyers secondaires de thrombo-phlébite des veines du petit bassin. Et malgré tout, la mort survenait en trois à quatre jours, après apparition de localisations pleuro-pulmonaires ou méningées, ou encore d'une pelvi-péritonite gazeuse péri-utérine.

Doués *in vitro* d'une grande activité sur les cultures de *W. perfringens*, les antibiotiques, et notamment la pénicilline, furent accueillis comme des armes capables de triompher des septicémies à *perfringens*, au même titre qu'ils permettaient de guérir à tous coups les septicémies à *funduliformis*.

En réalité, tout dépend du moment où la pénicilline est administrée ; si elle est prescrite aussitôt que l'avortement est constaté, c'est-à-dire en somme à titre préventif, avant que le germe ait eu le temps de pulluler, elle est parfaitement efficace (c'est probablement la raison de la diminution des cas de septicémie à *perfringens post abortum* aujourd'hui notée dans les statistiques). Mais si elle n'est mise en action qu'une fois que le processus physio-pathologique de la septicémie est amorcé, les résultats sont beaucoup moins favorables ; certes, l'hémoculture devient rapidement négative ; les complications infectieuses, les abcès ou phlegmons gangréneux sont évités ; mais l'ictère et l'azotémie continuent à progresser, tandis que s'installe l'anurie, contre laquelle vont être mises en jeu les méthodes d'épuration extra-rénale. Ainsi est révélée, dans cette septicémie, l'importance des enzymes de *W. perfringens* (hémolysines, collagénase, hyaluronidase, lécithinase), qui, une fois libérées dans l'organisme, continuent à agir sur les globules rouges, les cellules hépatiques et rénales, même si la multiplication du germe a été stoppée.

#### ANTIBIOTIQUES ET EFFET DES TOXINES BACTÉRIENNES.

Entre enzymes, exotoxines et endotoxines, la distinction est délicate. Comment, dans les infections, leur jeu est-il modifié par l'intervention des antibiotiques ?

*Antibiotiques et exotoxines bactériennes.* — Dans le tétanos, le moment où est administré l'antibiotique se révèle capital. Si la pénicilline intervient au moment de la blessure, inhibant, d'une part, les germes associés dont la pullulation risquerait d'accaparer les polynucléaires (classique déviation de la phagocytose), d'autre part, *Plectridium tetani* au sortir de sa spore, elle est douée d'un effet préventif indiscutable. Empêchant la végétation

du bacille de Nicolaïer, elle l'empêche évidemment d'élaborer son exotoxine. Si l'antibiotique n'est administré par contre qu'une fois la toxine libérée, il ne peut empêcher la survenue de la maladie.

La pénicilline ne doit donc être considérée que comme un adjuvant précieux du traitement prophylactique, qui reste fondé essentiellement sur la sérothérapie préventive si le sujet n'a pas été antérieurement vacciné, mais surtout sur la vaccination anatoxique systématique dans l'enfance, renforcée par des injections de rappel. Chez le blessé antérieurement vacciné, l'avantage certain d'un traitement à la pénicilline prolongé une huitaine de jours est de laisser à l'injection de rappel le temps de susciter la remontée des anticorps antitoxiques.

Dans la diphtérie, doués d'un puissant effet bactériostatique sur *Corynebacterium diphtheriae*, les antibiotiques l'empêchent d'élaborer son exotoxine ; mais ils sont naturellement dépourvus de toute action sur l'exotoxine, une fois que celle-ci a été libérée dans l'organisme. C'est dire que les antibiotiques n'ont en rien atténué l'importance de la sérothérapie et de la vaccination anatoxique, sur lesquelles reposent essentiellement le traitement et la prévention de la maladie ; les antibiotiques ne doivent être considérés que comme des adjuvants du traitement curatif.

Un danger, par contre, doit être signalé, c'est celui résultant de l'administration inconsiderée de la pénicilline, quand existe déjà une angine, mais avant tout examen médical. Le médecin n'est appelé qu'ensuite, parce que l'enfant est grognon, un peu pâle, qu'il présente quelques ganglions, une petite fièvre à 38, 38°5. Observant une angine douteuse, le praticien procède à un ensemencement sur sérum de bœuf coagulé ; celui-ci, en raison de la pénicilline, s'avère le lendemain négatif. On suspend tout traitement. On attend. Quelques jours plus tard, la gorge est pleine de fausses membranes, ou bien éclate le croup ; au mieux, c'est au bout d'un certain temps l'apparition d'une paralysie diphtérique. L'antibiotique, administré clandestinement, a masqué les caractères de l'angine diphtérique et retardé d'autant la sérothérapie.

Ainsi apparaît la vanité de vouloir régler l'attitude du médecin sur de seules indications théoriques. Dans ces deux infections toxigènes, que rapprochent tant de points concernant le rôle d'une exotoxine diffusible, élaborée par un germe qui ne végète que localement, il semblerait logique de toujours associer le plus précocement possible antibiotiques et sérothérapie. Seule la clinique révèle l'effet pratique nuisible de la modification de l'aspect de l'angine diphtérique sous l'influence des antibiotiques.

Mais la clinique s'avère ici même douée d'un rôle qui ne semblerait pas devoir lui revenir : celui d'être seule capable de définir



le mot « toxine ». Expliquons-nous. Qu'il s'agisse de *Pl. tetani* ou de *C. diphtheriae*, les antibiotiques sont susceptibles d'empêcher l'élaboration de leurs toxines, lorsqu'ils sont administrés à titre préventif ; mais une fois l'infection réalisée, ils se révèlent tout à fait insuffisants pour assurer la guérison. Or, nous avons vu que leur comportement était tout à fait analogue à l'égard de *W. perfringens* et de ses enzymes. C'est une nouvelle raison de rapprocher exotoxines et enzymes bactériens. Déjà dit-on indifféremment que les hémolysines, collagénase, lécithinase, hyaluronidase de *W. perfringens* sont des enzymes ou des composants de sa toxine. Au surplus, compare-t-on, par exemple, un enzyme authentique, telle l'hyaluronidase de *W. perfringens* et la toxine diphtérique ? Du point de vue chimique, les deux substances sont également protéiques et antigéniques, et leurs modes d'action sont analogues : elles interfèrent spécifiquement avec un mécanisme enzymatique de l'organisme-hôte, l'hyaluronidase, avec le mécanisme de l'organisme qui règle la composition de l'acide hyaluronique de son tissu conjonctif, la toxine diphtérique, avec le mécanisme respiratoire des cellules de l'organisme-hôte. Du point de vue biochimique, la symétrie est complète ; seul diffère l'effet final sur l'organisme atteint : augmentation de la perméabilité du tissu conjonctif, compatible avec la vie de l'organisme dans le premier cas, mort des cellules dans le second cas, cette mort cellulaire se traduisant selon la dose de la toxine injectée par une escarre locale, ou la mort de l'organisme tout entier. La différence n'est que d'ordre finaliste. Il n'y a de définition complète de l'exotoxine diphtérique que clinique : la toxine diphtérique, c'est un enzyme du germe, dont l'action sur l'organisme s'accompagne de signes généraux graves, parce qu'il se trouve qu'il interfère avec des processus indispensables à la survie de ses cellules.

*Antibiotiques et endotoxines bactériennes.* — C'est dans la fièvre typhoïde que le jeu des endotoxines a été le mieux étudié. Parce qu'elles sont bien connues, nous ne ferons qu'un rappel succinct des études de Reilly et de ses élèves [19].

Bien avant la survenue du chloramphénicol, elles leur avaient permis de proposer la physio-pathologie suivante : les bacilles d'Eberth traversent rapidement la muqueuse intestinale et végètent dans les ganglions lymphatiques mésentériques ; une adéno-lymphite se constitue à bas bruit, jusqu'au jour où, entraînés par le chyle, les microbes passent dans le sang. Mais, bientôt détruits dans les ganglions, les bacilles libèrent leur endotoxine, qui a pu être identifiée à l'antigène O (ou Vi), de constitution glucido-lipido-polypeptidique ; cette endotoxine, d'une part, passe dans la circulation, gagne les centres d'encéphaliques et provoque le

tuphos, d'autre part, elle imprègne les fibres nerveuses splanchniques voisines dont l'irritation détermine l'hypertrophie des plaques de Peyer.

Lorsque fut introduit le chloramphénicol dans la thérapeutique, que constata-t-on ? A côté des cas innombrables où la guérison survenait rapidement, parfois, au contraire, toute une série d'accidents : troubles psychiques intenses allant jusqu'au coma, hémorragies ou perforations intestinales subites [20]. On eût pu penser à la toxicité propre du médicament ; mais, utilisé dans le traitement du typhus exanthématique, le chloramphénicol n'y provoquait pas les mêmes effets nuisibles. Au surplus, l'autopsie des sujets morts au cours de fièvres typhoïdes traitées par le chloramphénicol, loin de révéler des lésions imputables à la toxicité du produit, permettait au contraire de retrouver, seulement exagérées, les lésions habituellement observées au cours des fièvres typhoïdes graves : des ganglions mésentériques très tuméfiés et hémorragiques, une nécrose intense du tissu lymphoïde, une rate très hypertrophiée avec de vastes raptus hémorragiques.

On était donc amené à penser que les morts devaient être dues à l'exagération, sous l'influence des antibiotiques, d'un processus physio-pathologique normal au cours de la fièvre typhoïde.

L'expérimentation permit de confirmer l'hypothèse ; deux expériences furent caractéristiques. La première : à deux lots de cobayes furent injectés dans les ganglions lymphatiques mésentériques la même dose de *S. paratyphi* B ; seul le premier lot fut traité par le chloramphénicol ; les cobayes correspondants moururent dans une hébétude intense ; l'autopsie révéla un infarctissement hémorragique des plaques de Peyer et de la muqueuse gastrique ; au contraire, les témoins survécurent. La preuve était donnée que c'est en accélérant la lyse des germes et par suite la libération de l'endotoxine que le chloramphénicol était responsable des accidents. La seconde : une même dose infime de germes était injectée à deux séries de cobayes ; puis le traitement par le chloramphénicol était entrepris immédiatement chez les animaux de la première série, tardivement chez ceux de la seconde ; ces derniers mouraient, tandis que les premiers ne présentaient aucun symptôme. L'explication paraissait s'imposer : chez les premiers cobayes, les germes étaient détruits avant de s'être multipliés ; l'endotoxine n'était libérée qu'en très faible quantité ; chez les seconds, au contraire, la destruction des germes n'intervenait qu'après qu'ils s'étaient multipliés ; la grande quantité d'endotoxine brutalement libérée était alors capable de provoquer les accidents mortels.

La conclusion pratique était essentielle, puisqu'elle amenait à régler l'intensité du traitement d'après le moment de son inter-

vention au cours du processus physio-pathologique, à supprimer la « dose de charge », à modérer la posologie de l'antibiotique, au prix peut-être d'une guérison moins rapide, mais afin d'éviter le risque désolant de voir le malade, stérilisé, mourir de sa guérison même (Reilly).

Mais, du point de vue théorique, de ces études résulte aussi un enseignement bien intéressant, au sujet de l'effet différent des antibiotiques sur les infections où est en jeu une exotoxine ou une endotoxine. Certes, dans les deux cas, administré précocement, l'antibiotique ne peut avoir qu'un effet heureux : en inhibant la multiplication du germe, il tarit la source d'intoxication ; il n'en est pas de même s'il n'intervient qu'une fois que le germe a eu le temps de végéter ; à l'égard des germes élaborant une exotoxine, son effet sera toujours utile, jamais nuisible ; au contraire, vis-à-vis des germes doués de constituants endotoxiques, il ne devra être administré qu'avec précaution, pour éviter les accidents dus à la brutale libération de ces derniers. Ainsi, grâce aux antibiotiques, est fourni un nouveau mode de distinction, en dehors de leur nature chimique, entre exotoxines et endotoxines. Encore une réserve clinique doit-elle être faite à cette affirmation trop systématique : point ne suffit qu'un germe soit pourvu d'une endotoxine intrinsèque pour que l'antibiotique, en la libérant, soit responsable d'accidents ; il faut, de plus, que ce germe végète dans l'intimité des tissus du malade ; tel n'est pas le cas d'*Escherichia coli*, doué pourtant lui aussi d'une endotoxine, mais dont le séjour dans l'intestin ou les voies urinaires ne risque pas, comme le bacille d'Eberth, dans les ganglions mésentériques, de le mettre en contact intime avec la circulation et les formations nerveuses. Tant il est vrai que sont bien nombreuses les conditions du pouvoir pathogène d'un germe donné pour un organisme donné, et bien hasardeux tout essai de passer du particulier au général, du moins chaque fois que la clinique est en jeu.

#### ANTIBIOTIQUES ET RÉACTIONS AUX ANTIGÈNES BACTÉRIENS.

A côté de l'aspect direct des infections, c'est-à-dire de leur aspect clinique, il en existe un aspect indirect : celui qui est caractérisé par l'apparition des anticorps dans le sérum du sujet infecté [21], ou encore par un état de sensibilisation, notamment de sensibilisation cutanée. Les antibiotiques ont-ils modifié cet aspect indirect des infections ?

Dans la fièvre typhoïde, le traitement antibiotique ne semble pas modifier le séro-diagnostic ; en règle sa positivité n'est pas inhibée. La raison en est vraisemblablement que le diagnostic de l'infection n'est soupçonné et l'antibiotique administré qu'une fois



que les germes ont déjà, pendant la période d'incubation, colonisé les ganglions mésentériques. Le processus physio-pathologique lymphatique est trop avancé pour que l'apparition des anticorps ne se fasse pas. C'est seulement dans quelques cas privilégiés, où le chloramphénicol avait été administré très précocement, que la non-survenue des agglutinines O (tandis que les anticorps H apparaissaient normalement) a pu être attribuée à l'action de l'antibiotique. Il est vraisemblable qu'il serait intéressant de suivre, grâce à des prises de sang répétées, la courbe précise des anticorps au cours de l'évolution d'une fièvre typhoïde traitée ou non traitée. Mais, outre qu'il est impossible aujourd'hui de prendre la responsabilité de ne pas traiter une fièvre typhoïde dès que le diagnostic est posé, nous n'avons pas connaissance qu'une telle étude ait été poursuivie.

Dans la tularémie, dans les brucelloses, le séro-diagnostic n'est jamais inhibé par le traitement antibiotique. Mais celui-ci n'est jamais entrepris que longtemps après le début de l'infection.

La même explication paraît valable pour rendre compte de la non-modification de la positivité des intradermo-réactions à la mélitine ou à la tularine.

De ces quelques remarques, il serait intéressant de rapprocher les observations faites sur le même sujet dans la syphilis ou la tuberculose. Dans la syphilis humaine, si le diagnostic est posé, grâce à l'ultramicroscope, dès l'apparition du chancre, la pénicilline aussitôt administrée n'empêche-t-elle pas la survenue de la réaction de déviation du complément et de la réaction de Nelson ? Dans la tuberculose expérimentale du cobaye, au contraire, même si, dès l'apparition du chancre d'inoculation, un traitement énergique est entrepris par la streptomycine ou l'isoniazide, la sensibilisation à la tuberculine n'en apparaît-elle pas moins ? Mais ce seul sujet mériterait une revue générale, qui sort du cadre de cet exposé.

Aussi nous contenterons-nous de conclure qu'en matière de réactions sérologiques ou de sensibilisation cutanée est surtout important le moment où l'antibiotique interfère avec le processus physio-pathologique en cause ; mais nous ajouterons aussitôt qu'il persiste bien des inconnues dans ce processus, notamment sur le rôle de la rapidité de multiplication des germes responsables, du siège de leur végétation dans l'organisme et de la nature des antigènes qu'ils y libèrent.

#### ANTIBIOTIQUES ET IMMUNITÉ.

On a voulu préciser scientifiquement le substratum de l'immunité, en décrire les éléments cellulaires et les éléments sérologiques, les facteurs non spécifiques et les facteurs spécifiques.

Les antibiotiques, à cet égard, ont-ils permis une analyse plus fine ?

Portons d'abord notre attention sur les maladies dues aux germes toxigènes.

Dans la *diphthérie* et le *tétanos*, les auteurs classiques, après avoir mis en évidence le rôle des exotoxines dans la détermination de la maladie, avaient prouvé que les anticorps antitoxiques tenaient sous leur dépendance l'immunité ; l'injection des sérums antitoxiques permet l'obtention immédiate de l'immunité passive : les anatoxines de G. Ramon provoquent l'installation de l'immunité active après vaccination. Comme, de toute façon, la maladie ne joue, au point de vue pratique, qu'un rôle d'arrière-plan dans la réalisation de l'immunité (le taux d'antitoxine est d'ailleurs moins élevé après maladie qu'après vaccination), les antibiotiques n'ont pu apporter aucune notion nouvelle.

Il en est tout autrement dans la *scarlatine*. Administre-t-on de la pénicilline tout au début de la maladie, dès que l'angine rouge est reconnue et isolé le streptocoque hémolytique, l'antibiotique amène la guérison rapide ; le streptocoque est inhibé, la gorge stérilisée et le malade guéri. Mais si l'enfant est maintenu au contact d'un autre scarlatineux (un frère par exemple), il risque d'être à nouveau contaminé par le streptocoque et de faire une nouvelle scarlatine, qui cédera d'ailleurs, comme la première, au traitement. Au contraire, si le sujet n'est vu, et par suite traité que tardivement, l'immunité s'installe ; c'est une immunité antitoxique : le sérum du convalescent donne lieu, après injection à un scarlatineux, au phénomène d'extinction de Schultz et Charlton ; la réaction de Dick (injection intradermique de toxine) reste négative. Le sujet, après guérison, peut à nouveau redevenir porteur de streptocoque hémolytique dans sa gorge ; il ne fera plus de scarlatine.

La pénicilline a permis de dissocier le rôle du germe et de sa toxine ; si le streptocoque est précocement inhibé, le processus physio-pathologique de la maladie est interrompu et, du même coup, l'installation de l'immunité ; si, au contraire, le germe se développe et élabore sa toxine, celle-ci va déterminer l'organisme à fabriquer l'antitoxine, cause de l'immunité.

Dans les maladies comme la *fièvre typhoïde*, dont la physio-pathologie relève surtout des endotoxines des germes (endotoxines qui en sont aussi les antigènes somatiques), il est tentant d'attribuer l'immunité aux anticorps dont l'élaboration est sollicitée par ces antigènes ; l'immunité après maladie leur serait due ; le but de la vaccination serait de les faire apparaître. Les constatations sérologiques vont à l'encontre de cette hypothèse ; les anticorps spécifiques en question (correspondant aux antigènes sonatiques O) sont très éphémères dans le sérum, après maladie

comme après vaccination. Faudrait-il alors invoquer, comme substratum de l'immunité, l'état d'alerte non spécifique du système neuro-végétatif et des cellules endothéliales lymphatiques, qui favorise l'englobement et la destruction des germes ? Mais on ne comprend pas, dans ces conditions, la spécificité de cette immunité, qui, par exemple, ne s'exerce que pour le bacille d'Eberth et non les paratyphiques A et B. Force est donc d'admettre la collaboration de deux facteurs, l'un spécifique et l'autre non spécifique, dans la réalisation de l'état immunitaire.

L'immunité après maladie résulterait de la coïncidence des deux processus, dont le point de départ commun siègerait d'ailleurs dans les ganglions lymphatiques mésentériques. Quant à la très longue protection conférée par les vaccinations TAB, effectuées pendant la guerre 1914-1918 et unanimement constatée pendant les vingt années ultérieures, elle relevait peut-être du relais d'une protection temporaire, plus ou moins en rapport avec la survenue d'anticorps, par une immunité de longue durée, due à une infection *a minima*, contractée au moment où l'épidémie faisait rage dans les tranchées. Ainsi apparaît l'impérieuse nécessité des injections de rappel, chez un sujet antérieurement vacciné, quand il risque d'être soumis au contagé, et devient clair le but de la vaccination : mettre le sujet dans un état où la contamination ne provoque pas une maladie à grand fracas, mais une adénolymphoïdite mésentérique, au-dessous du seuil des perceptions cliniques.

Les constatations concernant l'effet de la chloromycétine sur l'installation de l'immunité au cours de la maladie vont dans le même sens ; alors qu'un traitement entrepris tardivement ne modifie en rien l'apparition de l'immunité après maladie, au contraire l'administration très précoce de l'antibiotique et son arrêt rapide donnent lieu souvent à des rechutes ; ainsi deviennent évidents à la fois le rôle du nombre des germes dans le déclenchement des phénomènes inflammatoires nécessaires à l'installation de l'immunité et la difficulté de régler le traitement au mieux de l'intérêt du malade.

A l'égard de l'immunité dans la *coqueluche*, de durée limitée et attribuée aux anticorps après vaccination, mais mystérieuse (car seuls les anticorps antimicrobiens ne semblent pouvoir en rendre compte), les antibiotiques n'ont apporté aucune donnée nouvelle ; car la maladie ne peut être reproduite chez l'animal et chez l'homme le chloramphénicol ne réussit pas à interrompre son cours une fois qu'il est déclenché.

L'étude du traitement par les antibiotiques des *leptospiroses* est au contraire bien intéressante, surtout dans la maladie des porchers dus à *Leptospira pomona*. Comme tous les leptospires,



le germe est très sensible à la pénicilline ; mais le fait que la profession du malade met le clinicien sur la voie du diagnostic en explique le traitement immédiat : les leptospires sont détruits avant que des lésions aient eu le temps d'évoluer. Or, que constate-t-on ? Alors que chez le sujet non traité des agglutinines apparaissent normalement dans le sérum vers le septième ou huitième jour et augmentent ensuite leur taux au fur et à mesure que la maladie évolue, chez le sujet soumis précocement aux antibiotiques les agglutinines ne se développent pas ou, après être apparues, diminuent jusqu'à disparaître. Il en est de même des « immunisines » (?), dont la présence est jugée par le pouvoir séro-protecteur du sérum à partir du vingtième jour : elles ne se manifestent plus après administration d'antibiotiques. De même les antibiotiques empêchent l'installation de l'immunité. L'immunité, qui est de règle lorsqu'on laisse la maladie évoluer normalement vers la guérison, n'apparaît pas quand le malade est soumis d'emblée aux antibiotiques. Les leptospires lysés par les antibiotiques sont incapables de déterminer l'immunité que seuls provoquent les leptospires vivants. Et la question se pose au médecin de savoir si l'intérêt du malade n'est pas d'échapper au traitement, afin de n'être pas soumis constamment, du fait de sa profession, au risque d'une contamination nouvelle.

Telles sont les indications que fournit l'étude de l'influence des antibiotiques dans la survenue de l'immunité au cours de quelques maladies infectieuses. Un enseignement général paraît en résulter : si déjà dans chaque maladie les processus en cause paraissent complexes et non univoques (témoin la fièvre typhoïde où l'action du chloramphénicol n'a pas permis de discriminer le processus spécifique du processus non spécifique), en outre la comparaison des phénomènes en jeu dans chacune des infections passées en revue en révèle la diversité ; tantôt apparaît au premier plan le degré de multiplication du germe, tantôt l'existence d'exotoxine ou d'antigènes endotoxiques, tantôt aussi la réaction de l'organisme, qu'elle se manifeste par l'apparition d'anticorps spécifiques ou de réactions inflammatoires assez polyvalentes. Ainsi s'impose la notion que ne peut exister aucune définition physio-pathologique précise de l'immunité. *In* : « privé de » ; *munus* : « charge » ; privé de charge, privilégié. Tout ce que l'on peut dire, c'est que, par rapport au sujet « du commun » le sujet « immun » est privilégié ; placé dans les mêmes conditions, il est privé de la charge de faire une maladie. Il n'y a de définition valable de l'immunité que clinique ; ce sont les mêmes processus en jeu dans la physio-pathologie de la maladie qui sont en action dans l'état « d'immunité » ; seulement leur jeu reste ici au-dessous du seuil des manifestations cliniques.

ANTIBIOTIQUES ET ÉVOLUTION DE L'ASPECT DES INFECTIONS  
AU COURS DE LA VIE D'UN ORGANISME.

En bref, l'intensité du processus physio-pathologique se traduit pour l'organisme : ou par la mort, ou par une maladie clinique, ou par une infection latente (ou inapparente). Mais il y a, en général, un balancement entre le degré des manifestations de l'infection première, cause éventuelle de l'état immunitaire, et celui des manifestations de l'infection seconde, au cours de laquelle se révélera éventuellement cet état immunitaire.

Autrement dit : lorsqu'un organisme, pour la première fois de sa vie, est en lutte avec un germe donné, il réagit d'ordinaire à grand fracas ; au contraire, ultérieurement, lorsqu'il rencontre à nouveau le même germe (hormis le cas d'hypersensibilisation allergique) les symptômes de la seconde infection sont peu marqués, sinon inexistants.

La vaccination a pour prétention d'obtenir le même effet, en limitant toutefois artificiellement au minimum les manifestations de l'infection première ; elle se solde par un succès si l'infection seconde est atténuée, ou inapparente, par un échec si cette dernière atteint un niveau voisin de celui de l'infection primitive spontanée.

Si les antibiotiques sont mis en jeu au cours de l'infection primitive spontanée, plus tôt est interrompu le cycle physio-pathologique de la maladie, et moins a de chance de s'installer l'état immunitaire. Or, aujourd'hui, nous ne disposons pas seulement des antibiotiques qui stoppent la multiplication microbienne, mais aussi de la cortisone qui étouffe les réactions de l'organisme. Il n'y a pas à s'étonner que l'extinction de l'infection première ait pour conséquence de laisser le champ libre à l'ardeur de la seconde.

Cette constatation serait assez inquiétante, si son pessimisme n'était immédiatement assorti de deux réserves ; l'une est relative : les antibiotiques restent à notre disposition et, appliqués au cours de la seconde infection, ils peuvent avoir le même effet sur elle que sur l'infection première. L'autre est absolue : l'existence d'une vaccination préventive dicte notre attitude ; le rôle du médecin n'est pas, comptant sur les antibiotiques, d'attendre l'attaque spontanée du germe, mais de la prévoir ; la vaccination, entreprise au moment choisi, mettra l'organisme dans les conditions les meilleures pour réagir à peine à l'infection spontanée, qui lui permettra de se créer une immunité personnelle, active et durable.

Une preuve par l'absurde peut d'ailleurs être donnée du rôle utile de cette mise en état d'alerte progressive de l'organisme

par des infections *a minima* : élève-t-on en atmosphère stérile des cobayes qui ont été mis au monde stérilement par césarienne et nourris exclusivement par des aliments stérilisés ? Ils vivent. Mais accidentellement, se trouvent-ils placés brusquement sans les conditions habituelles de vie d'un animal normal ? en quelques heures une infection mortelle les emporte.

Ces expériences ont un autre intérêt ; elles ont en effet révélé chez ces cobayes stériles une absence de développement du tissu lymphoïde des fosses nasales, du cæcum, comme des ganglions correspondants [22]. Ainsi, une nouvelle fois l'attention est attirée sur ce tissu lymphatique où sont fixées, pour être détruites, toutes les substances exogènes venant polluer le milieu intérieur et où paraissent naître les réactions spécifiques et non spécifiques de l'organisme. Sous cette modification anatomique, quelles ne doivent pas être les modifications biochimiques qui se cachent, qui résument le passé de l'organisme et sont garantes de son avenir !

## ANTIBIOTIQUES ET ÉVOLUTION DE L'ASPECT DES INFECTIONS DANS UNE POPULATION

C'est du point de vue de l'individu que jusqu'à présent nous avons envisagé comment l'aspect de l'infection au cours de ses différents stades interfère avec les antibiotiques. Mais cet individu est membre d'une population.

### ANTIBIOTIQUES ET ÉVOLUTION DE L'ASPECT DES INFECTIONS DANS UNE POPULATION ACTUELLE.

Du point de vue de la population, comment se présente cette évolution de l'aspect des infections ?

*Antibiotiques et mortalité.* — Dès que les antibiotiques se répandent dans une population, la mortalité des maladies infectieuses s'effondre.

Cette disparition de la mortalité est certes spectaculaire dans les maladies épidémiques, considérées jusque-là comme les fléaux de l'humanité ; ainsi en est-il dans la peste (bubonique, mais aussi pulmonaire), dans le typhus épidémique. Des infections, qui étaient jadis responsables de la disparition de populations entières, sont aujourd'hui rapidement contrôlées par les services d'hygiène, s'ils disposent du stock nécessaire d'antibiotiques et de moyens d'en surveiller l'application.

La tuberculose qui, dans les pays civilisés il y a quarante ans, était la cause principale de la mortalité est, depuis la survenue de la streptomycine et de l'isoniazide, en constant recul.



Fièvre puerpérale, érysipèle, dysenteries, fièvres typhoïdes, méningites cérébro-spinales ne comptent plus qu'un nombre infime de cas mortels.

Mais ce sont vraisemblablement les infections broncho-pulmonaires dont la mortalité paye le plus lourd tribut aux antibiotiques, chez les enfants comme chez les vieillards. On en constate chaque jour les conséquences : l'augmentation totale des populations et leur vieillissement, posant avec acuité des problèmes de logement et de nourriture, lourdes charges pour les gouvernements et les organisations internationales, l'augmentation apparente du cancer et des maladies vasculaires, comme aussi des maladies à virus, contre lesquelles le public réclame d'être protégé.

*Antibiotiques et morbidité.* — A côté de cette diminution évidente de la mortalité, quelle est l'évolution de la morbidité ? La réponse est moins facile qu'on pourrait le croire.

A la survenue des antibiotiques a correspondu une augmentation de la morbidité en matière de tuberculose ; en effet, moins les sujets en meurent, et plus nombreux sont les malades à la charge de la Sécurité Sociale, malades par ailleurs susceptibles de contaminer leur entourage, d'où nécessité d'intensifier les mesures de surveillance et de protection des sujets sains.

Ainsi s'explique qu'un économiste ait pu dire que « la généralisation des antibiotiques était une catastrophe, car elle avait pour effet de maintenir en vie des vieillards et des malades dont la disparition aurait dû normalement soulager le budget de la collectivité ».

Pour les fièvres typhoïdes, le bilan est financièrement bénéficiaire ; car, à l'opposé d'autrefois, les malades sont soignés chez eux et guérissent rapidement. Mais il ne faut pas oublier que souvent, ils peuvent rester porteurs de germes et risquent de contaminer leur entourage, d'où l'impérieuse nécessité pour celui-ci de vaccinations préventives, avec injections de rappel au minimum tous les trois ans. De petites épidémies familiales à réapparitions successives observées autour d'anciens malades guéris par le chloramphénicol sont à cet égard significatives.

En réalité, tout dépend du sens qui est donné au mot morbidité. S'ils ne tiennent compte que du nombre de cas de chaque maladie infectieuse, il est probable que les statisticiens ne peuvent pas constater une diminution du taux général de la morbidité ; au contraire, s'ils se basent sur le nombre de journées d'hospitalisation ou d'arrêt de travail, leur bilan est favorable. Mais pour le malade comme pour son médecin, l'essentiel, c'est la gravité de la maladie ; sans voir plus loin, constatant que les antibiotiques font évoluer les maladies dans le sens de la bénignité, ils en concluent que leur effet se traduit par un immense bénéfice.

Le mot de la fin pourrait être emprunté à ce pharmacologue qui déplorait que le médecin ne soit pas instruit, en même temps que de l'effet thérapeutique des différents antibiotiques, de leurs prix de revient comparés. C'est le bon sens même ; car, à efficacité égale, le médecin doit, librement et en conscience, donner la préférence au produit qui coûte le moins cher à la collectivité.

ANTIBIOTIQUES ET ÉVOLUTION DE L'ASPECT DES INFECTIONS  
DANS UNE POPULATION,  
AU COURS DE GÉNÉRATIONS SUCCESSIVES.

La généralisation des antibiotiques est trop récente pour que, sur ce point, des faits cliniques valables soient apportés. On ne peut que raisonner par analogie avec des faits expérimentaux apparemment analogues.

Or l'exemple des souris et de *Salmonella typhi murium* n'est-il pas bien connu ? Prenons un lot de souris ; infectons-les par le germe ; elles meurent dans la proportion de 80 p. 100. Croisons les souris résistantes ; infectons leurs enfants ; recommençons l'opération à chaque génération ; à la sixième, nous n'avons plus que 20 p. 100 de morts. Si la question reste posée du rôle respectif de la sélection exercée par les germes, d'une mutation ou variation génétique spontanée des souris, ou de la transmission héréditaire d'un caractère acquis, le fait patent n'en est pas moins l'évolution héréditaire des souris vers la résistance à l'infection.

L'introduction des antibiotiques n'aura-t-elle pas pour effet justement de renverser cette tendance ?

La généralisation des antibiotiques dans une population n'implique-t-elle pas dès lors de prévoir dans l'avenir un redoublement de la médecine préventive et curative, en raison même de l'évolution au cours des âges successifs de la population vers la sensibilité aux infections ?

Mais le danger paraît d'autant plus grand, si cette population dont nous parlons risque d'entrer en contact avec une autre population, qui n'aura pas, faute d'antibiotiques, suivi une évolution symétrique.

On nous entretient souvent d'une guerre bactériologique d'agression, que pourraient, en secret, préparer certains peuples très évolués contre d'autres peuples moins évolués. La guerre bactériologique représente au contraire l'arme la plus efficace des peuples barbares, qui font de la guerre bactériologique défensive sans le savoir. L'histoire de toutes les expéditions militaires lointaines, décimées par les épidémies, qui respectent au contraire les populations autochtones, en témoigne.

On en arrive à la conclusion suivante, à la fois paradoxale et satisfaisante : l'intérêt égoïste bien compris d'une population

regorgeant d'antibiotiques, est d'en faire bénéficier une population voisine moins bien pourvue, pour éviter que cette dernière ne soit définitivement avantagée par sa résistance spontanée aux infections, contre lesquelles la première doit se défendre artificiellement par les vaccinations préventives et la thérapeutique antibiotique. Tant il est vrai que l'évolution biologique n'est faite que de la succession d'équilibres instables !



Au cours de cet exposé, nous avons eu essentiellement en vue l'organisme ou les populations d'organismes infectés. Mais ceci n'est que la moitié du problème. Car il y a du vrai dans la boutade qui dit que l'immunité de l'organisme représente sa virulence à l'égard des germes, comme la virulence des germes n'est que leur immunité à l'égard de l'organisme.

Dans la maladie infectieuse, deux acteurs sont en jeu, l'organisme et le germe, et chacun, après l'infection, laisse une empreinte sur l'autre.

L'évolution des maladies infectieuses sous l'influence des antibiotiques nous conduirait à parier pour la victoire définitive de l'homme sur le microbe [23].

En fait, tout dépend de l'évolution symétrique des populations microbiennes ; et nous attendrons avec anxiété le verdict de Chabbert [24].

Aussi est-ce sur un autre plan, sur celui de l'évolutionnisme lui-même, que nous chercherons une conclusion.

L'avènement des antibiotiques, en modifiant de façon spectaculaire l'aspect des maladies infectieuses, obligea à prendre conscience de « l'évolution et du destin des maladies infectieuses ». Et la constatation de l'évolution des maladies microbiennes incita naturellement à rechercher le mécanisme de l'évolution des microbes eux-mêmes. Ce sont les antibiotiques qui y ont conduit et ont fourni aux chercheurs les meilleurs moyens d'étudier cette évolution des germes : le développement de la génétique bactérienne est postérieure à la découverte des antibiotiques.

Mais, de même que Geoffroy St-Hilaire, en 1796, avait été le précurseur des travaux sur l'évolution des êtres vivants, de même que Charles Nicolle, en 1930, avait été celui des études sur l'évolution des maladies infectieuses, de même André Lwoff [25] est, depuis 1932, le précurseur incontesté des recherches sur l'évolution des microbes. Son livre paru en 1943 sur l'*Evolution physiologique des microorganismes*, non seulement représentait le bilan de nos connaissances sur le sujet à l'époque, mais, de plus, il indiquait le sens dans lequel elles se développeraient, et se sont, de fait, développées.

Or, il est remarquable de noter que les quatre grandes questions qui se posaient aux zoologistes au moment des débuts de l'évolutionnisme : unité de composition des êtres vivants ; transmission héréditaire des caractères acquis ; sélection par le milieu ; problème des mutations, sont précisément les mêmes auxquelles essayent de répondre aujourd'hui les microbiologistes.

*Mutations ?* On sait combien ce problème domine les discussions concernant la survenue de la résistance des germes aux antibiotiques. Sur les zoologistes, les microbiologistes ont le grand avantage que leurs populations peuvent être facilement rangées en tubes et qu'une génération ne dure guère qu'une vingtaine de minutes. Ainsi ont-ils eu la facilité de calculer de façon précise la fréquence de ces mutations.

*Sélection par le milieu ?* Elle est, pour le bactériologiste, évidente, quand la présence de l'antibiotique dans le milieu élimine les germes sensibles.

*Transmission héréditaire d'un caractère acquis ?* Admettre le caractère spontané de la mutation évite d'avoir à se prononcer. C'est, nous semble-t-il, une simple échappatoire. Car prévoir statistiquement la fréquence d'un phénomène n'est pas en donner une explication valable ; c'est seulement reconnaître que le mécanisme en jeu, que l'on ignore, se produit avec une fréquence, que l'on précise.

Est-il permis alors de remarquer que cette mutation se rencontre dans le tube où l'antibiotique est à concentration critique, c'est-à-dire où sont en contact des germes qui persistent à vivre et des germes en lyse ; qu'elle ne survient pas immédiatement, mais au bout d'un certain temps, c'est-à-dire lorsque de nombreux germes sont entrés en lyse ; qu'elle est observée d'autant plus facilement que l'inoculum est plus important, c'est-à-dire que plus grand est le nombre de germes en lyse ? Comment dès lors ne pas penser que la mutation serait due à l'action, sur le germe qui a échappé à la lyse par l'antibiotique, des constituants libérés par les germes lysés ? Et comment ne pas noter que le taux de mutation est augmenté précisément, quand des conditions sont réalisées, qui risquent d'augmenter le nombre des germes lysés : action de la moutarde à l'azote ou des rayons X ?

Intervient enfin *l'unité de composition des êtres vivants*.

Depuis Geoffroy St-Hilaire, le problème s'est déplacé. Il ne concerne plus la morphologie anatomique et macroscopique des êtres vivants, mais, à l'échelle infra-cellulaire, la morphologie biochimique des composants identiques de tous les êtres vivants, animaux, plantes ou microbes, qui dirigent tout leur métabolisme et assurent le maintien de leurs caractères héréditaires. Qu'un remaniement de la morphologie des acides nucléiques soit la cause de la mutation est certain. Ne pourrait-on penser que cette



mutation est induite par la mise à la disposition de la cellule du stock important d'acides nucléiques libérés par les autres cellules en lyse ?

Ainsi l'étude de l'évolution de l'aspect des infections sous l'influence des antibiotiques, en attirant l'attention sur la raison des mutations, pourrait nous conduire à la plus belle espérance : celle d'assister, à notre époque où se multiplient les recherches atomiques, capables de bousculer la morphologie des acides nucléiques de tous les êtres vivants, à une véritable Renaissance de la Biologie. Non seulement chez les microbes pourraient apparaître des formes nouvelles, dues à un remaniement imprévu des acides nucléiques, non conforme à l'évolution désespérément régressive par perte de fonctions. Mais peut-être les zoologistes auront-ils aussi la chance, chez les organismes dits supérieurs, de voir survenir, au lieu de produits d'évolution monotone, contrôlés par des gènes désespérément conservateurs, grâce à de simples échanges d'acides nucléiques entre les gènes de leurs diverses cellules, reproductrices ou non, quelques aspects morphologiques véritablement nouveaux, quoique conformes à l'unité de composition organique, tels... cyclopes, centaures, sirènes ou licornes !

## BIBLIOGRAPHIE

- [1] GEOFFROY ST-HILAIRE (Etienne). Mémoire sur les rapports naturels des makis, *Mag. Encycl.*, 1796, **1**, 20.
- [2] GEOFFROY ST-HILAIRE (Etienne). Observations sur l'aile de l'autruche, *Déc. égypt.*, 1799, **1**, 46.
- [3] GEOFFROY ST-HILAIRE (Etienne). Mémoire sur l'anatomie comparée des organes électriques de la raie torpille, du gymnote engourdissant et du silure trembleur, *Ann. Muséum*, 1802, **1**, 392.
- [4] GEOFFROY ST-HILAIRE (Etienne). Considérations sur les pièces de la tête osseuse des animaux vertébrés et particulièrement sur celles du crâne des oiseaux, *Ann. Muséum*, 1807, **10**, 342.
- [5] GEOFFROY ST-HILAIRE (Isidore). *Vie et doctrine scientifique d'Etienne Geoffroy St-Hilaire*, P. Bertrand, édit., Paris, 1847.
- [6] LAMARCK (Jean). *Philosophie zoologique*. Réédition Schleicher frères, Paris, 1907.
- [7] DARWIN (Charles). *L'origine des espèces*. Traduction, 6<sup>e</sup> édit. anglaise par Ed. Barbier. Reinwald, édit., Paris, 1880.
- [8] NICOLLE (Charles). *Destin des maladies infectieuses*, Presses Universitaires de France, 1939.
- [9] BOIVIN (A.) et DELAUNAY (A.). *L'organisme en lutte contre les microbes*. 4<sup>e</sup> édit., Gallimard, 1947.
- [10] REILLY (J.) et LAPLANE (P.). Rôle du système neuro-végétatif au cours des infections. *Encyclopédie médico-chirurgicale*, 1945, 130510, D, E, F.
- [11] SELYE (H.). *Textbook of Endocrinology*. *Acta endocrinologica*, Montréal, Canada, 1947.

- [12] GASTINEL (P.) et REILLY (J.). *Congrès français de Médecine*, XIX<sup>e</sup> session. Masson, édit., Paris, 1927, p. 1.
- [13] SCHOTTMÜLLER. *Wesen und Behandlung der Sepsis*. Verhandlungen der deutschen Kongress für innere Medizin, Wiesbaden, 1914.
- [14] GRISLAIN. Les septicémies puerpérales à germes anaérobies non telluriques ; mécanisme de l'infection sanguine. *Thèse*, Paris, 1943.
- [15] LEMIERRE (A.). *Maladies infectieuses*, 1<sup>re</sup> série, p. 366 ; 2<sup>e</sup> série, p. 53. Masson, édit., Paris, 1935 et 1937.
- [16] LAPORTE (A.), MACREZ (C.) et CONTAMIN (F.). *Congrès français de Médecine*, XXXI<sup>e</sup> session. Masson, édit., Paris, 1957, p. 59.
- [17] LAPLANE (R.) et TOURNIER (P.). *Congrès français de Médecine*, XXXI<sup>e</sup> session. Masson, édit., Paris, 1957, p. 33.
- [18] LEMIERRE (A.). *Maladies infectieuses*, 2<sup>e</sup> série, p. 36. Masson, édit., Paris, 1937.
- [19] REILLY (J.), COMPAGNON (A.), TOURNIER (P.), BASTIN (R.) et BUIT (H. du). *Ann. Méd.*, 1950, **51**, 1950.
- [20] SÉDALLIAN, MARAL, EXBRAYAT et GAILLARD. *Bull. Mém. Soc. méd. Hôp. Paris*, 1950, **66**, 50. — MOLLARET, REILLY, BASTIN et TOURNIER. *Bull. Mém. Soc. méd. Hôp. Paris*, 1950, **66**, 85.
- [21] FARHI (Aldo). Contribution à l'étude de l'action des antibiotiques sur l'immunité. *Thèse Sciences*, Paris, 1957, 418 références.
- [22] MIYAKAWA MASASUMI. *Le Sang*, 1957, 698-717.
- [23] FASQUELLE (R.). *Les trois aspects de la lutte contre les germes infectieux (l'étape non spécifique ; l'étape immunologique ; l'étape antibiotique)*. J. Peyronnet, édit., Paris, 1955.
- [24] CHABBERT (Y.). *Ann. Inst. Pasteur*, 1959, **97**, 41.
- [25] LWOFF (A.). *L'évolution physiologique. Etude des pertes de fonctions chez les microorganismes*. Hermann et C<sup>ie</sup>, édit., Paris, 1943.

# ÉVOLUTION DES POPULATIONS BACTÉRIENNES RÉSISTANTES SOUS L'INFLUENCE DES ANTIBIOTIQUES

par Y. CHABBERT.

*(Institut Pasteur, Laboratoire de l'Hôpital)*

Les bactéries habituellement hébergées par l'homme et les animaux subissent depuis quelques années une énorme agression de la part des antibiotiques dont le but avoué est de les faire disparaître. Cette agression est considérable. Le nombre des antibiotiques publiés croît constamment depuis 1945 et leur nombre dépasse actuellement 400. Parmi eux, une vingtaine ont été commercialisés.

Le poids des antibiotiques produits était de 1 400 tonnes aux Etats-Unis en 1956, les deux tiers seulement servant en thérapeutique humaine ou vétérinaire, le reste étant utilisé dans l'alimentation du bétail, la culture des plantes comestibles ou la conservation des produits. Dans les pays les plus développés, chaque individu absorbe tous les ans quelques dizaines de grammes d'antibiotiques.

Mais les bactéries sont capables de résister à cette agression. La résistance bactérienne est connue depuis les débuts de la bactériologie : Kossiakoff, dans le laboratoire de Duclaux, étudiait la résistance à l'acide borique en 1887.

Ces bactéries résistantes apparaissent par sélection d'un individu microbien résistant, sélection de souches résistantes au sein d'une espèce, sélection d'espèces résistantes dans les flores complexes.

Nous allons passer en revue l'état actuel de ces sélections afin de faire un bilan provisoire de la lutte entre l'effet des antibiotiques et la résistance microbienne.

## RÉSISTANCE ACQUISE.

La résistance acquise par un individu microbien au sein d'un clone a été très étudiée au laboratoire en raison des problèmes de mécanisme génétique qu'elle soulève.

Son homologue en clinique est l'apparition d'un échec thérapeutique lié à une bactérie résistante identique par ailleurs à celle

qui avait infecté primitivement le malade. Dans ce cas, on est en droit de penser qu'il s'est produit le même phénomène que celui observé *in vitro* : la sélection d'un mutant indépendant. Quel que soit l'intérêt théorique soulevé par ce problème, de tels cas, en dehors de tuberculose, sont rares et ne constituent pas un problème thérapeutique majeur.

On sait qu'il existe *in vitro* deux types de résistances : la résistance en un échelon du type streptomycine et la résistance en multiples échelons du type pénicilline. Pour la commodité on peut en désigner un troisième : la résistance en peu d'échelons qui se rencontre avec la majeure partie des antibiotiques antistaphylococciques récents : les érythromycines ou macrolides, la novobiocine et la vancomycine.

*La fréquence avec laquelle la résistance acquise a été observée in vivo est parallèle aux taux de mutation et aux échelons observés in vitro.*

Avec la streptomycine la résistance est extrêmement rapide dans les affections urinaires traitées par cet antibiotique seul. En 1945, on en a observé quelques cas types où, en quelques heures, la population sensible était remplacée par une population résistante. L'emploi de la streptomycine seule est actuellement trop rare pour que l'on puisse continuer à observer de tels cas.

A l'opposé, la résistance en multiples échelons qui se rencontre avec la pénicilline n'a pratiquement pas été observée en clinique. Une méningite à *Dialyster pneumosintes* observée à l'hôpital Pasteur constitue à peu près le seul cas évident. Jamais au cours d'infections à gonocoques, méningocoques, pneumocoques, streptocoques, staphylocoques, on n'a signalé de cas indiscutables de résistance acquise. Les cas observés en 1945 avec les staphylocoques étaient dus à des réinfections. Dans les endocardites bactériennes on a pu administrer des kilogrammes de pénicilline pendant plus d'un an sans modifier la sensibilité de l'entérocoque en cause.

Avec les antibiotiques à large spectre dont la résistance est aussi à multiples échelons, moins d'une dizaine de cas certains ont été signalés. Mais dans ces cas la résistance croisée observée *in vitro* se retrouve *in vivo*.

Avec les érythromycines et la novobiocine on a eu la mauvaise surprise de voir apparaître des streptocoques et des staphylocoques résistants dans des septicémies traitées pendant quelques semaines. Lorsque l'on a comparé ces résistants avec leurs homologues de divers échelons obtenus *in vitro* à partir de la souche primitive sensible, on a constaté qu'ils correspondaient à des résistants de premier échelon. Avec ces antibiotiques le saut initial est suffisant pour mettre la souche hors d'atteinte de la thérapeutique.



Deux facteurs expliquent la rareté actuelle de la résistance acquise *in vivo*.

a) *Les déficiences* des germes résistants. La résistance s'accompagne souvent d'une perte de certaines fonctions. Sans parler des altérations morphologiques, ce qui nous entrainerait trop loin, les altérations portent :

α) Sur la croissance. Dans un mélange d'une population sensible et de son variant résistant repiqué sans antibiotique, le résistant disparaît parce qu'il se multiplie moins vite.

β) Sur divers métabolismes.

γ) Sur la virulence, sans que des faits très nets et généraux aient pu être avancés.

Le résistant semble être un individu désavantagé en l'absence d'agent sélecteur.

b) *L'antibiothérapie associée* est actuellement la règle dans la pratique courante pour des raisons très diverses. Il n'est pas douteux qu'elle freine considérablement l'émergence des résistants et c'est certainement le facteur essentiel qui a maintenu la résistance acquise *in vivo* dans des limites qui l'ont empêchée de devenir un grave problème en thérapeutique.

Est-ce à dire que le problème est définitivement résolu ? Deux faits constituent une menace : avec la novobiocine aussi bien *in vitro* en milieu liquide qu'*in vivo* dans les septicémies graves, l'adjonction d'autres antibiotiques actifs ne semble pas freiner considérablement l'apparition de la résistance. Les mutants résistants de certains antibiotiques ont donc une faculté particulière à être sélectionnés.

D'autre part, il existe des « souches phénomènes ». Alors que la résistance de *S. typhi* au chloramphénicol est exceptionnelle, nous avons récemment observé une souche dont la résistance est apparue très rapidement non seulement au chloramphénicol mais aussi à la streptomycine, alors qu'il n'y a jamais de résistance croisée entre ces deux antibiotiques.

Ces deux faits montrent que l'on ne peut pas être absolument sûr de l'avenir.

#### SÉLECTION DES SOUCHES RÉSISTANTES AU SEIN D'UNE ESPÈCE.

L'augmentation du pourcentage des souches résistantes au sein d'une espèce est le phénomène qui a le plus frappé les médecins, le grand public et même la presse.

Avant de faire le bilan de l'évolution des principales espèces bactériennes, il faut se demander quelle est *l'origine de ces souches*.

Elles peuvent provenir de la résistance acquise au cours d'un traitement. Si les cas bien observés sont rares leur nombre réel est certainement beaucoup plus grand. Certaines souches résistantes à la streptomycine, par exemple, ont des caractères très voisins des résistants observés *in vitro*. Mais ce n'est pas le cas le plus général, on a habituellement affaire à des souches naturellement résistantes. La résistance était-elle le premier état des bactéries ? Quand et où cette résistance est-elle apparue ? Autant de questions qui risquent de rester sans réponse.

Ces souches naturellement résistantes sont de deux sortes.

Elles peuvent être *voisines du type sensible*. Une espèce bactériologique peut vis-à-vis d'un antibiotique se décomposer en variétés génotypiquement distinctes dont les plus résistantes seront sélectionnées. Suivant la plus ou moins grande homogénéité d'une espèce la sensibilité des souches la composant se répartira suivant une courbe normalement distribuée ou suivant une courbe à plusieurs sommets.

Elles peuvent être d'un *type différent* par plusieurs caractères de la souche sensible. Un des premiers exemples a été rencontré parmi les streptocoques du groupe A. Durant la guerre, 600 000 hommes de l'U. S. Navy furent traités par la sulfadiazine pour prévenir les infections streptococciques et le rhumatisme. Très vite des souches résistantes apparurent au point de rendre cette prophylaxie inopérante. Or, les souches résistantes appartenaient au type sérologique 17, tandis que les autres types restaient sensibles.

L'exemple le plus typique est celui représenté par les staphylocoques résistants à la pénicilline par production d'un enzyme destructeur : la pénicillinase. En raison du caractère adaptatif de cet enzyme on observe de grandes différences dans sa production suivant les conditions de milieu, de température, d'inoculum, d'association de la pénicilline avec d'autres antibiotiques. Mais la différence entre le type sensible et le type producteur de pénicillinase est profonde et le passage de l'un à l'autre n'a pas encore été réalisé de façon sûre.

Les souches résistantes naturelles ne se comportent pas comme les souches possédant une résistance acquise dans les phénomènes de résistance croisée. Un mutant à un antibiotique sera constamment résistant à un groupe d'autres antibiotiques apparentés. Cette résistance croisée est assez complexe, car elle peut être unilatérale et ne frapper que certaines espèces microbiennes. Chez les souches naturellement résistantes, la résistance croisée se produit de façon beaucoup plus anarchique et pour une même espèce presque tous les cas sont représentés.

*Une espèce comprend des souches résistantes hétérogènes* qui vont pouvoir être sélectionnées.

SÉLECTION DES SOUCHES RÉSISTANTES  
DANS LES DIVERSES ESPÈCES.*Espèces qui ont le plus évolué.*

Les *staphylocoques* étudiés lors de l'apparition d'un nouvel antibiotique comprenant en général moins de 5 p. 100 de souches résistantes. En 1947, en Angleterre, on observe une élévation brutale en milieu hospitalier des souches productrices de pénicillinase. Le phénomène se retrouve dans tous les pays et pour tous les antibiotiques dès que leur diffusion commerciale s'opère. Le problème des staphylocoques résistants est actuellement un problème majeur de l'antibiothérapie : ils ont déclenché des épidémies sérieuses dans les crèches notamment ; plus d'un millier de publications leur ont été consacrées et, de 1952 à 1957, tous les screenings de la recherche industrielle ont été orientés vers la découverte de nouveaux agents antistaphylococciques, une dizaine d'entre eux ayant été commercialisés.

Nous allons essayer de schématiser les caractères de cette évolution. Dans les *hôpitaux* le pourcentage des staphylocoques pénicillino-résistants a augmenté partout pour atteindre 70 à 80 p. 100 des souches. Dans un hôpital on trouve chez les malades traités par la pénicilline et dans le nez et la gorge des malades non traités et du personnel médical, un pourcentage identique de porteurs de staphylocoques résistants d'un même type bactériophagique. La présence chez un sujet de ces staphylocoques dépend plus de la durée de présence dans l'hôpital que des traitements subis ; il s'agit donc d'une contagion réciproque entre malades et personnel et, dans beaucoup de pays, on parle de la souche de l'hôpital X comme d'un animal familial.

Les pourcentages de souches résistantes à la streptomycine, aux tétracyclines et à l'érythromycine sont habituellement plus faibles que ceux observés avec la pénicilline. Ils se situent entre 20 et 50 p. 100 lorsque la pénicilline est largement employée. Mais ces pourcentages sont sous la stricte dépendance de l'extension d'emploi d'un antibiotique. Si l'antibiotique majeur est la tétracycline et mieux l'érythromycine, en quelques mois on observera près des trois quarts de souches résistantes à l'antibiotique utilisé. En même temps la sensibilité à d'autres antibiotiques variera, car toutes les combinaisons de résistance aux divers antibiotiques ne sont pas également représentées et certaines sont plus fréquentes que d'autres. L'élévation du pourcentage des résistants à l'antibiotique le plus utilisé s'accompagne d'une baisse parallèle du pourcentage des résistants de l'antibiotique abandonné. Il y a possibilité de chassés-croisés spectaculaires, qui ont naturellement conduit à proposer un emploi cyclique des antibiotiques.

A l'opposé de ce qui se passe dans les hôpitaux la fréquence des souches résistantes n'augmente que très peu dans la *population générale* des sujets sains, même dans les pays où les antibiotiques sont largement répandus. Une étude très récente aux U. S. A. montre, par exemple, 18 p. 100 de souches résistantes à 7 antibiotiques parmi les malades et le personnel d'un hôpital et seulement 0,7 p. 100 dans la population générale.

Tout ceci n'est évidemment qu'un schéma très général qui comporte de nombreuses exceptions et des stades intermédiaires dont nous parlerons à propos des facteurs limitant l'évolution.

En dehors des staphylocoques certaines espèces ont beaucoup évolué vers la résistance.

« *Escherichia coli* » *pathogène*. En 1954, un travail fait à l'Institut Pasteur et portant sur plus de 1 500 souches montrait une très grande variété de sensibilité suivant les sérotypes et l'origine, mais dans l'ensemble il y avait moins de 5 p. 100 de souches résistantes aux antibiotiques à large spectre qui étaient alors utilisés avec succès. De 1954 à 1956 le pourcentage des coli résistants à ces antibiotiques s'est élevé à Lille de 19 à 96 p. 100. L'introduction en thérapeutique intestinale de la néomycine a été très rapidement suivie d'une augmentation du pourcentage des souches résistantes et il a fallu faire appel à la famille polymyxine-colimycine.

*Pseudomonas aeruginosa*, entre 1949 et 1954, a modifié sa sensibilité, aussi bien vis-à-vis des antibiotiques de la famille streptomycine-néomycine que vis-à-vis des antibiotiques à large spectre. Les 4/5 des souches ne sont plus sensibles actuellement qu'à la famille polymyxine-colimycine.

*Gonocoques*. Les pourcentages de souches résistantes aux sulfamides ont augmenté durant la période où ils ont été très utilisés, 80 p. 100 des souches étudiées à Boston en 1949 étaient résistantes. Coïncidant avec la diminution d'emploi des sulfamides et la généralisation de celui de la pénicilline, on ne trouvait plus en 1954 que 10 p. 100 de souches résistantes à la sulfadiazine.

Avant 1957 on ne trouvait pas de souche résistante à plus de 20 µg/ml. Nous verrons plus loin ce qu'il est advenu de la sensibilité à la pénicilline.

Certaines autres espèces ont subi une évolution irrégulière dont il est difficile de rendre compte. Il s'agit de genres bactériologiquement assez vastes comme les *Proteus* et les *Streptocoques*. Parmi eux toutes les espèces n'ont pas une sensibilité égale et toutes les statistiques ne font pas le partage entre espèces avec précision. Cependant, aussi bien chez les *Proteus* que chez les streptocoques non groupables et les streptocoques du groupe D, une évolution très nette vers la résistance à certains antibiotiques s'est produite ces dernières années.



L'évolution vers la *résistance* n'est pas générale. Chez les streptocoque du groupe A, les pneumocoques, les méningocoques, les *Salmonella*, *Shigella*, *Brucella* et *Hemophilae*, on n'observe pas d'évolution caractéristique vers la résistance.

#### FACTEURS CONDITIONNANT CETTE ÉVOLUTION.

La fréquence au sein d'une espèce de souches naturellement résistantes, l'usage intensif et exclusif d'un antibiotique et les facilités de contagion favorisent l'évolution vers la résistance.

Il existe heureusement des *facteurs limitants* ; parmi eux, nous voudrions en signaler deux :

a) *La déficience ou l'instabilité des germes résistants.* Nous avons vu les déficiences de quelques mutants isolés *in vitro*. Chez les souches naturellement résistantes on observe, d'une part, des mutations réverses vers le type sensible avec souvent un taux de mutation très élevé, d'autre part, en plaçant la souche résistante et son variant sensible dans des conditions hostiles, les germes sensibles tendent à prédominer. Si ce phénomène se produit dans la nature, il y a là un facteur incontestable d'équilibre.

b) *Multiplication des antibiotiques.* L'augmentation du pourcentage des souches résistantes dans une population humaine ne semble pas indéfinie. Des cas indiscutables de stabilisation se rencontrent. Nous suivons depuis douze ans une statistique portant sur plusieurs centaines de souches annuelles de staphylocoques isolés à Paris dans un laboratoire de ville. Une évolution vers la résistance pour tous les antibiotiques utilisés s'est opérée de façon brutale entre 1950 et 1952, mais depuis sept ans il n'y a aucune évolution significative. Le pourcentage des staphylocoques résistants à chaque antibiotique s'est stabilisé à un taux variable d'un antibiotique à l'autre : 55 pour la pénicilline, 20 pour la streptomycine, 12 pour le chloramphénicol. Or, cette stabilité a été observée ailleurs, et il semble que le pourcentage des souches résistantes est très voisin pour des populations analogues prises dans des pays éloignés. Ces stabilisations semblent dépendre de l'emploi d'un grand nombre d'antibiotiques : 18 en France, utilisés sans aucune restriction. La multiplication et l'abus des antibiotiques qui se produit dans les pays d'économie libérale apparaissent sous l'angle de l'évolution vers la résistance comme un facteur limitant important.

Le cas du gonocoque et de la pénicilline peut servir de conclusion à ce chapitre. Les possibilités de sélection de gonocoques pénicillino-résistants se présentaient dans de mauvaises conditions : la résistance acquise *in vitro* est une résistance à multiples échelons et elle est difficile à obtenir et, de fait, on n'a pas observé de résistance acquise au cours de traitements. La courbe

de répartition de la sensibilité des gonocoques est extrêmement peu dispersée et sa moyenne inférieure à 1/100 d'unité était très en dessous des taux humoraux usuels. On ne connaissait pas de souches résistantes naturelles. Enfin, pendant quinze ans d'un usage intensif de la pénicilline, aucune évolution n'était apparue.

Malgré tous ces éléments favorables, en Angleterre, aux Etats-Unis et en France en 1958, divers auteurs ont trouvé 15 p. 100 de souches plus résistantes que les souches déjà connues. Des études seront certainement faites pour déceler l'origine de cette résistance, mais d'ores et déjà cette évolution soudaine montre la fragilité des prévisions que nous pourrions être amenés à faire en matière de sélection.

#### SÉLECTION D'ESPÈCES RÉSISTANTES DANS LES FLORES COMPLEXES.

La sélection d'espèces résistantes dans les flores complexes s'impose quotidiennement au bactériologiste. Nous allons faire un tableau très général des aspects de cette sélection chez l'homme ou l'animal, ce qui nous conduira à envisager les modifications possibles de l'étiologie bactérienne des maladies et à voir s'il existe des germes destinés à supplanter les espèces classiques.

L'effet général des antibiotiques est de faire disparaître les espèces sensibles et de les remplacer par des espèces de plus en plus résistantes, pour aboutir finalement à l'apparition de levures ou de champignons qui échappent aux antibiotiques antimicrobiens.

Chez l'homme cette sélection revêt des aspects différents suivant les antibiotiques et surtout suivant les flores de l'arbre urinaire, des voies aériennes et du tractus digestif.

Les infections urinaires, grâce aux possibilités de réinfection par voie ascendante et descendante sont l'exemple le plus frappant des changements brutaux de flore. Si l'arbre urinaire est normal, l'infection s'élimine souvent très vite avec un antibiotique approprié. Mais si un facteur anatomique quelconque sert de point d'appel, les bactéries rencontrées vont suivre un cycle assez constant. Les *E. coli*, staphylocoques, entérocoques initiaux attaqués par des antibiotiques actifs font place en vingt-quatre à quarante-huit heures à des *Proteus* plus résistants, qui eux-mêmes céderont le pas à des *Pseudomonas* plus ou moins typiques et à des *Alcaligenes fecalis*. Dans certains cas, on reste très vite désarmé et l'arrêt des antibiotiques ramène souvent une flore mixte moins nocive.

Dans les voies aériennes, et particulièrement dans les affections pulmonaires, les changements sont plus lents et masqués par des modifications de flore des bronches ou de l'oro-pharynx. La flore pneumo-streptococcique, sans disparaître complètement, s'agrè-

mente très vite d'autres espèces. Avec la pénicilline, il était classique d'observer, surtout en période hivernale, la prolifération de bacilles Gram-négatifs et surtout d'*Hemophilus influenzae*. Cela semble moins fréquent actuellement. Etant donné la fréquence actuelle de sujets porteurs de staphylocoques résistants à plusieurs antibiotiques dans le nez et la gorge, ce sont ces staphylocoques qui constituent la flore de remplacement habituelle, mais la présence d'une seule souche de staphylocoque ne semble pas être la règle et l'on observe souvent de spectaculaires changements de type de staphylocoque. A un stade plus avancé on retrouve des bactéries Gram-négatives : *Proteus*, *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Moraxella*. Après une antibiothérapie prolongée chez un sujet fatigué, on isole des levures. Le danger des mycoses pulmonaires a été très diversement apprécié, mais ce danger est certain et légitime l'emploi d'antifongiques.

Les modifications de flore qui ont été le plus systématiquement étudiées sont les modifications de la flore intestinale. On a cherché à obtenir la suppression de la flore pendant la période opératoire et post-opératoire de la chirurgie intestinale. Les meilleures études ont comporté une appréciation de l'évolution quantitative des principaux groupes de germes intestinaux : streptocoques, staphylocoques, coliformes, clostridies, bactéroïdes et levures. Près d'une trentaine d'antibiotiques et de combinaisons ont été essayés. Pour obtenir une suppression presque complète des bactéries pendant deux à quatre jours il faut utiliser des produits non absorbables et non détruits dans l'intestin (Neo-Sulfa). Les levures se développent en grand nombre et peuvent être dangereuses.

Le fait le plus intéressant est qu'après une telle suppression, la flore normale se reconstitue extrêmement vite.

Tout autres sont les conséquences de l'administration prolongée, *per os*, des antibiotiques absorbables par voie intestinale. La diarrhée par antibiotique constitue un syndrome coprologique actuellement bien connu, qui comporte des stades divers, dont certains sont même difficilement réversibles. Cette diarrhée s'accompagne d'une sélection des espèces les plus résistantes à l'antibiotique administré. Ces espèces, dans la majorité des cas heureusement, ne sont pas directement pathogènes et le dysfonctionnement intestinal a été mis sur le compte d'avitaminoses ou de modifications des enzymes pancréatiques sans que son mécanisme exact ait été parfaitement élucidé. Beaucoup plus nets sont les cas où l'antibiotique a sélectionné une espèce nettement pathogène. L'exemple type en sont les syndromes toxiques consécutifs à l'absorption de tétracyclines. Les plus graves sont dus à la sélection de staphylocoques entérotoxiques résistants aux tétracyclines, et un certain nombre de cas ont été mortels. Ils ne sont

pas l'apanage exclusif des tétracyclines, les autres antibiotiques sont capables de les produire ; le staphylocoque n'est pas toujours en cause et la sélection de *Proteus* et de Clostridies a pu entraîner des troubles graves.

D'une façon générale, toute antibiothérapie *per os* sélectionne des espèces résistantes parmi lesquelles nous retrouvons *Aerobacter*, *Pseudomonas*, *Alcaligenes* et *Moraxella* et, par suite de la fréquence des infections d'origine fécale, elle augmente les risques d'infections par des espèces résistantes.

Mais à côté de cet effet brutal et prévisible de sélection des espèces résistantes, il y a des flores qui semblent présenter une remarquable stabilité en présence de certains antibiotiques. La flore buccale par exemple se modifie peu, même pendant de longues périodes de temps chez les sujets utilisant des dentifrices à la tyrothricine.

Enfin le changement de flore peut être bénéfique : les études portant sur les fèces et le contenu intestinal des animaux dans la nourriture desquels on ajoute des antibiotiques indiquent que ces antibiotiques abaissent certaines espèces de microorganismes et en stimulent d'autres. Contrairement à une première opinion, le nombre total des bactéries augmente après une diminution initiale. La flore résistante qui émerge est favorable à la croissance des animaux, et si l'on nourrit des animaux avec cette flore résiduelle, on augmente leur croissance.

#### MODIFICATIONS DE L'ÉTIOLOGIE BACTÉRIENNE DES MALADIES.

La sélection constante des espèces les plus résistantes entraîne-t-elle une modification de l'étiologie bactérienne des maladies ?

On observe dans les laboratoires une diminution incontestable des grands germes spécifiques : bacilles typhiques, diphtériques, gonocoques, méningocoques, pneumocoques, streptocoques du groupe A. Cette diminution est liée en partie à une certaine diminution de la morbidité des affections qu'ils causaient, diminution dont l'antibiothérapie n'est pas toujours la seule responsable, mais surtout au fait que la majorité des infections sont jugulées très tôt par les antibiotiques administrés par les malades eux-mêmes ou les médecins.

Il est intéressant de voir quelles sont les espèces les plus fréquentes qui sont isolées actuellement dans un laboratoire d'hôpital. Dans une statistique portant sur 1 300 souches, on a isolé 354 streptocoques dont la très grande majorité étaient des entérocoques, 289 staphylocoques, soit 1/3 de cocci Gram-positifs appartenant à deux espèces seulement, 643 bacilles Gram-négatifs dont 184 *E. coli*, 267 *Aerobacter*, 150 *Proteus*, 60 *Pseudomonas*



et 25 *Alcaligenes*. Il semble que toutes ces espèces étaient loin, il y a trente ans, de retenir de la même façon l'attention des laboratoires.

Si l'on rentre dans le détail des infections otitiques, méningées, pulmonaires, urinaires ou gynécologiques, on s'aperçoit que les « germes rares » ont nettement pris le pas sur l'espèce bactérienne prédominante. Nous ne prendrons qu'un seul exemple tiré des infections otitiques post-scarlatineuses. Une statistique récente nous apprend que sur 5 059 scarlatines traitées par la pénicilline, 4,6 p. 100 ont fait des complications otitiques. Sur les germes isolés la moitié étaient des *Pseudomonas* ou des *Proteus* et la moitié des staphylocoques ; les streptocoques n'ont été isolés que dans 0,1 p. 100 des cas.

#### GERMES D'AVENIR.

En exposant tous ces faits un certain nombre de noms sont revenus plus souvent que d'autres. Ces espèces peuvent-elles apparaître comme des germes d'avenir ?

A côté des staphylocoques dont le rôle est certainement croissant bien qu'ils soient attaqués par un nombre croissant d'antibiotiques, on note la présence de bacilles Gram-négatifs appartenant à des espèces très diverses : *Aerobacter*, *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Moraxella* ; certaines semblent même avoir une position taxonomique assez incertaine.

Nous avons vu ces bactéries être sélectionnées dans presque toutes les flores mixtes soumises aux antibiotiques ; elles ont aussi une propension naturelle à s'implanter dans tous les milieux imprégnés d'antibiotiques. Il est curieux de constater qu'actuellement les flores que l'on isole chez les urinaires longuement traités sont les mêmes que celles qui constituent les souillures occasionnelles des cultures de tissus imprégnés des mêmes antibiotiques.

Il s'agit de bactéries dont l'habitat naturel est extérieur à l'homme ; elles sont certainement plus sauvages que les espèces classiques. Le sol peut être un réservoir immense de bactéries et les pulvérisations d'antibiotiques sur les légumes ou les fruits qui vont se généraliser sont peut-être susceptibles d'opérer une présélection d'espèces résistantes. Il est loisible de parler d'une menace, mais entre la constatation que des espèces qui ne sont pas strictement saprophytes de l'homme sont actuellement en train de prendre la vedette et penser que leur rôle pathogène s'accroîtra au point de devenir un problème pour la santé publique, il y a un immense pas à franchir. Rien ne nous permet de conclure en ce moment.

## CONCLUSION.

Le bilan rapide que nous avons fait n'a pu que retenir les grandes lignes des différents aspects de la résistance sans entrer dans le détail des publications faites par de nombreux auteurs. Ces faits sont cependant suffisants pour tirer une conclusion :

La résistance microbienne n'a pas annulé complètement l'effet des antibiotiques. Dans beaucoup de domaines, elle ne constitue qu'un danger mineur. L'emploi, en associations multiples, d'antibiotiques différents, permet d'éviter des sélections trop importantes. Cependant, bien que la marche de la résistance soit plus lente qu'on aurait pu le supposer et que l'on observe de nombreux paliers et rémissions, les antibiotiques perdent avec le temps une partie croissante de leur efficacité. Le bilan actuel n'est favorable que parce que l'apparition régulière d'antibiotiques nouveaux a permis, ces dernières années, d'avoir toujours une arme de plus dans les cas les plus difficiles. Cet état d'équilibre est évidemment précaire; il est indispensable que l'effort de découverte et de mise au point des antibiotiques ne se ralentisse pas tant qu'une diminution massive de la morbidité et de l'infestation par les différentes espèces pathogènes ne pourra pas faire augurer de leur disparition prochaine. Ce n'est pas encore le cas aujourd'hui.

---

## MODIFICATIONS DES POPULATIONS DES FOYERS TUBERCULEUX AU COURS DE LA CHIMIOTHÉRAPIE ANTIBACILLAIRE

par G. CANETTI.

(*Institut Pasteur, Service de la Tuberculose*)

La tuberculose figure en bonne place parmi les infections que l'avènement de la chimiothérapie a radicalement transformées. Mais, différente de la plupart des infections par de nombreux caractères, la tuberculose l'est également par la chimiothérapie qu'il est nécessaire de lui opposer. Il n'existe aucune autre infection, la lèpre exceptée, qui exige pour guérir une chimiothérapie aussi longue, et il n'en existe aucune qui, en l'absence d'une chimiothérapie associant deux agents, permette aussi souvent le développement de populations résistantes. Cet état de choses est déjà ébauché dans certaines variétés de tuberculose expérimentale, mais c'est au cours de la tuberculose pulmonaire de l'homme qu'il prend toute sa gravité. Il s'explique par deux faits fondamentaux : d'une part, par la très inégale réceptivité des bacilles tuberculeux aux agents anti-bacillaires selon l'état métabolique des bacilles, ce qui permet à certains bacilles non génétiquement résistants, dits « persistants », d'échapper à l'action bactéricide des agents ; d'autre part, par le nombre énorme de bacilles qui existent dans certains foyers tuberculeux, d'où la présence possible, dans ces foyers, de mutants résistants *dès avant le traitement, et leur sélection ultérieure*. Les particularités du comportement de la tuberculose à l'égard de la chimiothérapie viennent ainsi, pour l'essentiel, de facteurs bactériologiques ; mais c'est le jeu spontané de la tuberculose, c'est-à-dire les conditions biologiques très particulières qu'elle réalise dans certains foyers avant tout traitement, qui explique que ces facteurs bactériologiques puissent prendre une importance si grande. Cet état de choses sera longuement étudié au cours de ce travail.

Notre exposé comprend trois parties : l'étude de la *bactéricidie*, à laquelle sera rattaché le problème de la stérilisation des cavernes pulmonaires ; l'étude des *bacilles persistants* ; enfin l'étude, fondamentale, des *populations résistantes*.

## I. — BACTÉRICIDIE. STÉRILISATION DES CAVERNES.

1° *Bactéricidie « in vitro »*. Les grandes drogues antibacillaires, l'isoniazide et la streptomycine, et aussi plusieurs parmi les drogues mineures, sont bactéricides. Lorsque des suspensions de bacilles tuberculeux provenant de cultures en pleine croissance sont mises à 37°, dans un milieu nutritif, au contact de concentrations actives de ces drogues, le nombre de bacilles viables diminue rapidement : ainsi, en milieu liquide de Dubos contenant 1 µg/ml d'isoniazide ou 10 µg/ml de streptomycine, et que l'on additionne de 10<sup>5</sup> bacilles par millilitre, on retrouve après sept jours moins de 1 p. 100 des bacilles viables initialement présents [49]. L'action bactéricide des drogues, mesurée par le temps nécessaire à la destruction de 99 p. 100 de la population, est d'autant plus rapide que leur concentration est plus élevée ; toutefois, au-delà d'un certain taux, qui est d'ailleurs beaucoup plus élevé que celui réalisable *in vivo*, l'accroissement de la concentration n'accélère plus la bactéricidie. Les concentrations d'isoniazide et de streptomycine indiquées ci-dessus, ou des concentrations proches, sont couramment atteintes ou dépassées *in vivo* par les traitements actuels de la tuberculose humaine. Mais une différence importante, d'ailleurs commune à toutes les infections traitées par antibiotiques, existe entre les systèmes bacilles-drogues *in vitro* et *in vivo*. Alors que la drogue est présente *in vitro* de manière permanente, elle ne l'est *in vivo* que de manière intermittente : les modalités actuelles de la chimiothérapie antituberculeuse conduisent à d'assez longs intervalles où la drogue est totalement absente de l'organisme, ou présente à des concentrations non mesurables. L'exacte incidence de cet état de choses sur la rapidité de la bactéricidie *in vivo* n'est pas connue avec précision, malgré quelques tentatives d'approche [4, 7], car l'on n'est pas encore parvenu à réaliser *in vitro* un système bacilles-drogues qui reproduise fidèlement les fluctuations de concentration survenant *in vivo*. L'expérience montre cependant que le rythme de décroissance des populations bacillaires est nettement plus lent *in vivo* qu' *in vitro* (encore qu'il ne le soit pas *considérablement* dans certaines circonstances) ; cette chute plus lente pourrait être due en partie à la moindre permanence des concentrations de drogues réalisées dans l'organisme.

Il faut attacher beaucoup d'importance à la nature bactéricide de l'action des grandes drogues antibacillaires, quelles que soient par ailleurs ses lenteurs. Dans les infections traitées par des antibiotiques bactériostatiques, la destruction finale des bactéries s'opère par les agents immunitaires de l'organisme, à quoi s'ajoutent certains facteurs mal connus, tels que l'épuisement ou l'alté-



ration de ce milieu local très particulier, les *foyers* de la maladie, où vivent et se multiplient les bactéries. Les mécanismes complexes qui agissent ainsi ne sont pas nécessairement d'une efficacité moindre que la bactéricidie directe ; l'exemple des tétracyclines, dont l'action est bactériostatique et qui ont dans certaines infections des effets si puissants, le prouve. Mais en tuberculose, il existe un type de foyer dans lequel l'intervention des facteurs immunitaires s'avère d'une grande inefficacité, et où l'on n'observe pas davantage un épuisement local du milieu. Il s'agit de la *caverne pulmonaire*, qui est le siège d'une multiplication bacillaire très intense et *indéfiniment persistante* : on verra plus loin les populations énormes qui arrivent ainsi à se constituer. Le fait que les grands agents antibacillaires aient une action bactéricide apparaît alors dans toute son importance : s'il fallait à ces agents l'appoint constant des forces défensives de l'organisme pour être pleinement efficaces, on ne verrait probablement pas beaucoup de cavernes pulmonaires guérir par chimiothérapie. Or, on en voit guérir, et même *se stériliser*, un nombre considérable.

Etant donné le rôle prééminent que les cavernes jouent dans l'extension locale et dans la transmission de la tuberculose — foyers tuberculeux de beaucoup les plus riches en bacilles, ce sont aussi ceux d'où les bacilles peuvent s'échapper le plus facilement —, nous examinerons longuement la fréquence de la stérilisation des cavernes tuberculeuses sous chimiothérapie. C'est là le problème-clef de la chimiothérapie antibacillaire.

2° *Stérilisation des cavernes chez l'homme*. La fréquence de la stérilisation cavitaire a été étudiée en collaboration avec J. Grosset sur 614 cavernes, provenant de 592 cas de tuberculose pulmonaire. Dans tous ces cas, la zone pulmonaire contenant la caverne avait été réséquée chirurgicalement, après une chimiothérapie de durée et de qualité variables. Un prélèvement endocavitaire a été alors ensemencé sur plusieurs tubes de Löwenstein-Jensen, selon une technique quantitative décrite ailleurs [10].

Sur les 614 cavernes étudiées, 228, soit 37 p. 100, ont donné une culture négative. Quelques-uns de ces résultats négatifs s'expliquent peut-être par une sensibilité insuffisante des milieux de cultures employés, car la caverne gardait encore un aspect évolutif. Mais la plupart des résultats répondent bien, selon toute vraisemblance, de par le contexte histologique très favorable de la lésion, à des *stérilisations véritables*. Le taux d'un tiers de cavernes stérilisées par la chimiothérapie peut paraître faible. Il est en fait élevé, si l'on tient compte de la nature très particulière des cas étudiés. La résection chirurgicale n'est en effet pratiquée en tuberculose que lorsque le résultat de la chimiothérapie est cliniquement insuffisant, soit qu'il y ait persistance

de bacilles dans l'expectoration, soit que la cavité n'ait point évolué radiologiquement vers un aspect cicatriciel ; il s'agit d'ailleurs très souvent de malades ayant reçu une chimiothérapie très insuffisante, qualitativement et quantitativement. Les cas soumis à l'intervention chirurgicale représentent donc un groupe de malades hautement sélectionnés dans un sens défavorable, et le taux de stérilisations cavitaires trouvé, loin de militer contre l'efficacité de la chimiothérapie antibacillaire, en constitue au contraire un indice fort impressionnant.

Mais il importerait bien davantage de connaître la fréquence de la stérilisation cavaire chez les malades tuberculeux, beaucoup plus nombreux en l'état actuel des choses, *qui guérissent cliniquement par la seule chimiothérapie*. Ce renseignement fondamental est impossible à obtenir en toute rigueur. En effet, en l'absence de résection chirurgicale, le seul moyen dont on dispose pour connaître l'effet bactériologique de la chimiothérapie sur la tuberculose pulmonaire est l'étude de l'*expectoration* des malades. Dans tous les cas de guérison par la chimiothérapie, l'expectoration apparaît durablement stérilisée (ce qui est d'ailleurs la condition première pour qu'une tuberculose pulmonaire soit considérée comme guérie, par quelque traitement que ce soit). Mais de ce que l'expectoration est devenue stérile, il ne s'ensuit pas nécessairement que le résidu cavaire le soit aussi. Il existe des cas, certaines cavernes réséquées le démontrent, où le résidu de la cavité héberge encore des bacilles, mais où ceux-ci ne peuvent passer dans l'expectoration, parce qu'une sténose cicatricielle a fermé la bronche reliant la lésion à l'arbre aérien. Toute certitude est donc impossible en ce domaine.

Il existe cependant de fortes présomptions pour que, chez les tuberculeux pulmonaires guéris cliniquement par la seule chimiothérapie, le résidu cavaire soit le plus souvent stérile. En effet, les cavernes qui, dans le groupe de cas chirurgicaux étudiés plus haut, s'avéraient presque toujours stériles, étaient celles qui avaient subi une involution anatomique et histologique très prononcée. Cette involution, dans ses grandes lignes, est fort bien reconnaissable sur les clichés radiologiques. Or, chez les malades guéris par la seule chimiothérapie, la transformation radiologique favorable dont nous parlons existe habituellement à un degré bien plus marqué encore que chez les malades chirurgicaux : ce qui, joint à la négativation durable de l'expectoration, constitue justement la raison pour laquelle l'acte chirurgical est jugé chez les premiers inutile.

Ce fait a une importance primordiale. Il rend très vraisemblable que les résidus cavitaires des malades guéris cliniquement par la seule chimiothérapie sont dans la grande majorité des cas des résidus stériles.

Il reste à savoir avec quelle fréquence la chimiothérapie guérit cliniquement la tuberculose cavitaire. Cette fréquence est fonction de plusieurs facteurs, parmi lesquels la nature et la durée de la chimiothérapie occupent de loin la première place. Une discussion approfondie de ce facteur ne peut être entreprise ici ; elle n'aurait d'ailleurs pour l'essentiel qu'un intérêt historique. *On sait maintenant qu'un traitement par l'isoniazide en association avec la streptomycine ou l'acide para-amino-salicylique, poursuivi pendant au moins une année, guérit cliniquement 80 p. 100, et peut-être davantage [13], des tuberculoses cavitaires.* Ce taux ne concerne toutefois que des tuberculoses dont les bacilles sont, au début du traitement, normalement sensibles aux deux agents antibacillaires employés. Les conditions dans lesquelles le traitement est administré (malades longtemps au repos), la régularité avec laquelle il est pris, ont également une grande importance. Les raisons pour lesquelles, même dans les conditions les plus favorables, un traitement de longue durée est nécessaire pour la guérison de la tuberculose cavitaire, de même que le rôle fondamental joué par l'association de deux agents antibacillaires, apparaîtra clairement dans les chapitres suivants.

## II. — BACILLES PERSISTANTS.

1° *Données expérimentales.* — Les agents antibacillaires n'agissent pas sur certains bacilles génétiquement sensibles, mais qui se trouvent dans un état de vie métabolique très ralentie ou nulle [19, 28, 32]. Ces bacilles sont appelés « persistants » [5]. Déjà, *in vitro*, dans le système bacilles-drogue décrit précédemment, l'existence des persistants apparaît clairement : si 99 p. 100, et même davantage, d'une population bacillaire élevée sont détruits par un contact de quelques jours avec la drogue, il y a toujours survie de quelques bacilles, et ces germes, remis dans un milieu de culture neuf, sans drogue, donnent naissance à une population dont une certaine proportion est sensible. Ce ne sont donc pas uniquement les mutants génétiquement résistants qui ont survécu, mais aussi certains bacilles génétiquement sensibles, que quelque chose, dans leur état physiologique, a empêché de subir l'action de la drogue. Le fait qu'il s'agit là de bacilles dont le métabolisme est extrêmement réduit, voire nul, est rendu vraisemblable par l'inefficacité des drogues sur des *populations entières*, lorsque celles-ci sont placées dans des conditions de vie défavorables. En milieu dit « de famine » (solution phosphatée tampon), en anaérobiose, sur une culture ayant atteint son maximum de développement et arrivée à la phase stationnaire [31 bis], les drogues n'exercent plus d'action ; or, dans toutes ces circonstances, le métabolisme des bacilles est réduit à l'extrême, si tant est qu'il existe.

On exprime souvent cet état de choses en disant que les drogues antibacillaires n'agissent que sur des bacilles *en voie de multiplication*. Cette affirmation n'est point fausse, mais laisse entendre que c'est l'état physiologique conduisant les bacilles à se multiplier qui les rend *ipso facto* réceptifs aux drogues. En fait, la relation entre ces trois termes : bacilles en voie de multiplication, bacilles métabolisant activement, bacilles réceptifs aux drogues, pourrait être plus subtile. Tout un ensemble de faits, invoqués par Mac Dermott [26] et qui ne peuvent être discutés ici, donnent à penser que c'est la cellule bactérienne « jeune » qui est réceptive aux drogues, que son vieillissement va de pair avec l'acquisition de mécanismes adaptatifs qui suppriment cette réceptivité, et que la multiplication de la bactérie n'intervient qu'en créant de nouvelles cellules bactériennes jeunes et réceptives : l'accent étant ainsi mis, pour ce qui est de la liaison entre réceptivité et multiplication, non pas sur l'état bactérien qui *précède* la multiplication, mais sur celui qui la suit.

L'existence de « persistants » sensibles se constate *in vivo* aussi bien qu'*in vitro*. Les expériences de Mc Cune, Tompsett et Mc Dermott [23], celles de F. Grumbach [17], ont montré que si l'on inocule à des souris un nombre élevé de bacilles, par exemple  $10^6$ , et si l'on traite ces souris immédiatement et pendant un temps prolongé, cent trente jours, par l'isoniazide, on retrouve à la fin du traitement dans le poumon et surtout dans la rate un petit nombre de bacilles sensibles : pourtant, l'intégrité anatomique et histologique de l'organe est à ce stade totale. Même une dose quotidienne d'isoniazide aussi formidable que 100 mg/kg (environ vingt fois la dose minima efficace), dose inapplicable chez l'homme, même l'association de deux ou de trois drogues parmi les plus efficaces, laisse subsister chez une partie des souris traitées quelques bacilles sensibles dans la rate [25, 24]. La chimiothérapie antituberculeuse n'aboutit donc pas toujours à l'*éradication* de la population bacillaire sensible.

Il existe cependant des circonstances expérimentales où tout se passe comme si l'éradication des bacilles se produisait. Dans une expérience de Bartmann [2], des cobayes reçoivent un nombre très faible de bacilles, 30-40 ; les animaux sont traités d'emblée, et pendant quatre mois, par 5-10 mg d'isoniazide quotidiennement ; neuf mois après la fin du traitement, les animaux ne montrent ni foyers macroscopiques, ni foyers microscopiques de tuberculose, et toutes les cultures des organes restent stériles. A de pareils résultats, on peut objecter que quelques bacilles persistants ont peut-être passé inaperçus, car les organes du cobaye ne peuvent êtreensemencés en totalité ; que les persistants pourraient se trouver parfois dans un état tel que, tout en étant vivants, ils ne sont plus cultivables ; et enfin, que les résultats n'auraient peut-être pas été les mêmes si l'on avait laissé sur-



vivre les animaux encore plus longtemps. Poussées à l'extrême, de pareilles objections sont sans réplique : l'éradication d'une infection est impossible à prouver en toute rigueur. L'expérience rapportée ci-dessus, jointe à quelques autres, montre cependant que dans certaines circonstances expérimentales la persistance bacillaire, *sous sa forme actuellement constatable*, ne se produit pas. Plusieurs facteurs : l'espèce en cause, l'organe, la nature et la durée du traitement, doivent avoir sur la fréquence du phénomène une certaine incidence. Mais le facteur le plus important est, selon toute vraisemblance, la dose bacillaire infectante.

2° *Chez l'homme.* — La persistance *in vivo* de bacilles sensibles après chimiothérapie efficace, c'est-à-dire après destruction de l'immense majorité de la population bacillaire, n'est pas l'apanage de l'infection tuberculeuse ; elle existe dans un nombre considérable d'infections. Mais certains aspects du phénomène sont assez particuliers à la tuberculose. Chez l'homme, il y a lieu de distinguer trois ordres de faits en ce domaine.

a) On sait que l'évolution du processus tuberculeux conduit très souvent à la *mortification* des tissus atteints : les foyers tuberculeux les plus communément rencontrés, quelles que soient la localisation et la forme clinique de la tuberculose, sont de petits nodules, faits d'une nécrose particulière, le *caséum solide*. Or, le caséum solide constitue un milieu où de multiples facteurs (substances inhibitrices nées de la désintégration tissulaire, enzymes, concentration accrue de  $\text{CO}_2$ , anoxie surtout) s'opposent à ce que les bacilles aient un métabolisme actif : on a vu que c'est là la condition première de la survie bacillaire sous chimiothérapie. Le type de persistance bacillaire qui peut se produire ainsi est un peu différent de celui décrit précédemment, en ce qu'il survient dans un milieu grossièrement modifié par l'infection, et même, créé par elle, la nécrose, alors que la persistance du type précédent s'observe en tissu apparemment sain. Mais la différence est peut-être plus quantitative que qualitative ; elle porte sur l'ampleur des changements de milieu qui sont à l'origine du phénomène, elle ne porte pas, selon toute vraisemblance, sur le mécanisme par l'intermédiaire duquel il se produit : le ralentissement du métabolisme microbien.

En fait, la persistance de bacilles tuberculeux en milieu nécrotique solide s'observe beaucoup moins souvent que l'on ne pourrait le craindre de prime abord. Dans nos investigations, portant sur 502 nodules caséeux solides, provenant de 325 poumons tuberculeux réséqués après isoniazidothérapie — la résection ayant presque toujours été faite dans ces cas pour des lésions plus importantes que les nodules, habituellement une caverne — la proportion de nodules fournissant à la culture quelques colonies

de bacilles isoniazido-sensibles n'a été au total que de 5 p. 100, ce qui est infime. La raison principale en est que les conditions biologiques défavorables qui existent dans ces foyers les conduisent très souvent à une stérilisation *spontanée* : même en l'absence de toute chimiothérapie, la majorité des nodules caséeux solides d'un certain âge s'avèrent stériles [8]. Ces foyers ne contiennent d'ailleurs à aucun moment un nombre élevé de bacilles. En fait, la chimiothérapie n'exerce sur eux une action certaine que lorsqu'ils sont tout récents ; à ce stade, les conditions défavorables créées par la nécrose n'ont pas encore eu le temps de retenir profondément sur la vie bacillaire, et les foyers hébergent encore des bacilles métaboliquement actifs. On peut concevoir aussi que, dans les cas rares où la survie des bacilles se prolonge, la chimiothérapie poursuivie longtemps ait en quelque sorte, devant ces bacilles persistants, un rôle de bouclier, permettant d'attendre en toute sécurité leur mort spontanée : car tout épisode de réveil du métabolisme microbien, à supposer qu'il s'en produise, restaurerait la réceptivité des bacilles aux agents antibacillaires et amènerait leur destruction.

b) Le second type de persistance assez particulier à la tuberculose est celui qui s'observe à l'intérieur des cavernes pulmonaires. Bien que les conditions de végétation y soient exceptionnellement favorables, les bacilles ne s'y trouvent pas tous dans un état de vie métabolique très active. Il y a de bonnes raisons pour penser qu'en l'absence même de toute chimiothérapie, dans la caverne la plus évolutive qui soit, certains bacilles se comportent d'emblée comme des « persistants », avec le ralentissement extrême des processus physiologiques que cela comporte. Cet état de choses s'accroît une fois que la chimiothérapie est en cours. La destruction précoce d'un grand nombre de bacilles réceptifs entraîne en effet des modifications profondes de la structure caverneuse, et ces modifications vont souvent dans le sens d'une transformation de la caverne en foyer caséeux solide : une lente altération des possibilités de végétation bacillaire se produit alors, créant les conditions nécessaires pour que les bacilles survivants perdent leur réceptivité aux agents antibacillaires. Cet état de choses est plus grave que dans le cas des foyers caséeux *d'emblée* solides, les nodules, parce que la population initiale des cavernes est incomparablement plus élevée : les chances sont donc beaucoup plus grandes pour que, au moment où les conditions biologiques du foyer deviennent celles qui rendent les bacilles non-réceptifs, il reste encore dans la caverne des bacilles vivants. La disparition de ces bacilles ne peut venir que de deux événements, déjà évoqués plus haut : leur mort spontanée, ou la reprise de leur vie métabolique, qui leur rendrait la réceptivité aux drogues. *C'est pour attendre en toute sécurité l'un ou l'autre de*

ces événements qu'il est nécessaire de poursuivre la chimiothérapie de la tuberculose très longtemps ; et c'est parce que la probabilité de l'existence de « persistants » est beaucoup plus grande dans le cas de la tuberculose cavitaire que dans celui de la tuberculose nodulaire qu'il est statistiquement raisonnable, si l'on peut dire, de traiter les tuberculeux cavitaires plus longtemps. Le délai minimum d'un an, qui s'est peu à peu implanté pour le traitement de la tuberculose cavitaire, répond assez bien aux constatations bactériologiques faites dans les cavernes réséquées chirurgicalement : après un an d'isoniazidothérapie, nous n'avons trouvé, sur 215 cavernes, que 3 p. 100 contenant encore quelques bacilles isoniazido-sensibles (auxquels s'ajoutaient d'ailleurs presque toujours des bacilles isoniazido-résistants beaucoup plus nombreux) ; après deux ans d'isoniazidothérapie, sur 102 cavernes, aucune. (Toutes les autres cavernes étaient ou habitées de populations entièrement isoniazido-résistantes, ou stériles.)

c) Le dernier type de persistance qu'il y ait lieu de décrire s'observe lui aussi dans les cavernes. Mais il ne s'agit plus de la survie de bacilles génétiquement sensibles, il s'agit de la survie de *mutants génétiquement résistants*. Ces mutants sont sélectionnés dans l'abondante population initiale ; mais le changement des conditions de végétation survenu dans la lésion sous l'action de la chimiothérapie empêche leur multiplication et les condamne à l'état de persistants. Cet état de choses sera longuement évoqué plus loin. Il illustre admirablement la complexité des données en tuberculose, puisqu'il apporte, associées dans la même cellule microbienne, la structure génétique qui conditionne le phénomène de résistance et l'état physiologique qui conditionne le phénomène de persistance : différents dans leur essence, les deux phénomènes peuvent donc coexister, et c'est en tuberculose une éventualité très fréquente.

### III. — POPULATIONS RÉSISTANTES.

1° GÉNÉRALITÉS. — Dans toute population suffisamment nombreuse d'une souche de bacilles tuberculeux « sauvage », c'est-à-dire n'ayant jamais été en contact avec une drogue antibacillaire donnée, on trouve quelques mutants résistants à cette drogue.

Il faut souligner d'emblée qu'à l'égard de l'isoniazide et de la streptomycine, les mutants résistants que l'on trouve dans les souches sauvages sont de deux types : les uns de résistance basse, et pouvant accéder par mutations successives à des niveaux de résistance élevés, les autres d'emblée de résistance élevée. On sait que c'est là le type de résistance bactérienne qui s'observe *en général* à l'égard de la streptomycine et qu'il s'oppose à un autre type de résistance, dans lequel n'existent initialement au sein des populations bactériennes sauvages que des mutants de résis-

lance basse, type rencontré avec la pénicilline. Etant donné que les mutants bacillaires d'emblée très résistants s'avèrent, aussi bien pour ce qui est de l'isoniazide que de la streptomycine, d'un niveau de résistance incomparablement plus élevé que les concentrations maxima de drogue réalisables *in vivo*, il ne peut y avoir en tuberculose une prophylaxie certaine de l'isoniazido-résistance ou de la streptomycino-résistance par l'administration d'isoniazide ou de streptomycine *isolés* : même avec les doses les plus fortes, les concentrations réalisées dans l'organisme restent très en deçà de la résistance des mutants élevés. Encore faut-il, pour que cet état de choses ait une incidence concrète, que la population des lésions au début du traitement soit suffisamment grande pour que des mutants de résistance élevée y existent. C'est loin d'être le cas dans toutes les formes de tuberculose.

La composition exacte des souches sauvages en mutants résistants ne peut être envisagée ici. Très sommairement, une souche sauvage contient *un* mutant résistant à 1  $\mu\text{g/ml}$  d'isoniazide sur  $10^5$ - $10^6$  bacilles, et *un* mutant résistant à 10  $\mu\text{g/ml}$  de streptomycine sur  $10^7$  bacilles (les deux concentrations qui viennent d'être indiquées sont de vingt à vingt-cinq fois supérieures aux concentrations-limite auxquelles, dans la plupart des souches, l'immense majorité de la population est sensible, en milieu liquide). Les souches contiennent bien davantage de mutants de résistance très faible ; on trouve par exemple dans beaucoup de souches *un* mutant résistant à 0,1  $\mu\text{g/ml}$  d'isoniazide sur  $10^4$  bacilles. Dans certains cas, ces mutants jouent un très grand rôle.

Il existe des variations d'une souche sauvage à l'autre pour ce qui est de la teneur en mutants résistants, et plus encore, pour ce qui est de la composition en mutants de résistance différente [29] ; ces variations ont peut-être une certaine incidence sur le niveau de résistance atteint au cours d'un traitement. Ces faits ont été jusqu'ici fort peu étudiés ; ils pourraient avoir une réelle importance en matière d'isoniazido-résistance.

Une différence fondamentale oppose les mutants isoniazido-résistants aux mutants streptomycino-résistants, comme d'ailleurs aux mutants résistants aux autres agents antibacillaires connus. Les premiers donnent naissance à des souches qui sont de virulence très atténuée, les seconds à des souches qui sont de virulence quasi-normale. L'atténuation de virulence des souches isoniazido-résistantes a donné lieu à un grand nombre de travaux ; il s'agit en effet d'un phénomène des plus singuliers, et qui soulève une multiplicité de problèmes. Deux d'entre eux ont une importance *pratique* particulièrement grande. L'atténuation de virulence des souches isoniazido-résistantes, qui existe expérimentalement pour plusieurs espèces, a-t-elle une répercussion sur l'évolution de la



tuberculose au cours de laquelle la souche résistante est apparue, l'extension ultérieure de cette tuberculose se faisant de manière plus lente ? Surtout, l'atténuation de virulence a-t-elle des conséquences épidémiologiques favorables, la fréquence et la gravité des contaminations nouvelles par bacilles isoniazido-résistants étant, à exposition égale, moins grandes que celles par bacilles sensibles ? Ces questions sont traitées dans les rapports de N. Rist et de B. Kreis, ci-après ; elles occupent une place de choix dans la problématique actuelle de la chimiothérapie antibacillaire.

2° CONDITIONS NÉCESSAIRES A L'APPARITION DE SOUCHES RÉSISTANTES. — Il ne suffit pas que des mutants résistants préexistent dans les souches sauvages, il faut encore, pour qu'il y ait véritablement résistance, que ces mutants parviennent à se multiplier dans l'organisme jusqu'à devenir l'essentiel de la population bacillaire. Pour qu'il en soit ainsi, une conjonction de trois conditions est nécessaire : une population bacillaire initialement élevée, des concentrations d'antibiotiques suffisantes arrivant au contact des bacilles, une persistance de facteurs locaux ou généraux favorables à la prolifération des bacilles.

a) *Population initiale.* — En règle générale, la résistance n'apparaît pas si la population bacillaire n'est pas élevée au moment de l'institution du traitement. On se souvient que dans les expériences sur la souris citées plus haut, une infection par  $10^6$  bacilles soumise à un traitement immédiat par l'isoniazide, c'est-à-dire sans possibilité d'augmentation de la population avant le traitement, ne permet en général que la survie de bacilles sensibles. Mais si cette infection n'est soumise au traitement que quinze à vingt jours après son début, on observe toujours, à un moment donné du traitement, ainsi que F. Grumbach l'a vu [16, 17], l'apparition de populations isoniazido-résistantes : c'est qu'au cours de la période sans traitement, la population bacillaire globale s'est considérablement accrue, atteignant par exemple au quinzième jour un taux d'environ  $10^8$  bacilles dans le poumon,  $10^7$  bacilles dans la rate, et contenant de ce fait un nombre appréciable de mutants isoniazido-résistants, qui, sous l'action sélective du traitement, donneront naissance à des populations résistantes.

Chez l'homme, il existe plusieurs formes de tuberculose dans lesquelles l'apparition de populations résistantes est rare. Ces formes, qui comprennent presque toutes les tuberculoses extra-pulmonaires (sauf peut-être la tuberculose rénale), les formes nodulaires pures de la tuberculose pulmonaire, et bien entendu l'infection tuberculeuse latente, ont ceci en commun que leurs lésions ne contiennent à aucun moment un nombre élevé de

bacilles. Ainsi, des fragments de tuberculose *osseuse* (mal de Pott) enlevés chirurgicalement avant toute chimiothérapie et mis en culture, ne fournissent *au maximum* que  $10^3$  colonies, et habituellement bien moins, ce qui, compte tenu de la part que la semence peut représenter du tissu pathologique tout entier, indique une population globale maxima d'environ  $10^5$  bacilles : nombre insuffisant pour qu'il y ait souvent apparition de la résistance [9]. Mais nous avons déjà dit qu'il existe une variété de foyer tuberculeux, la caverne pulmonaire, où les populations de bacilles sont d'un tout autre ordre de grandeur : dans une caverne de diamètre moyen (2 cm) il peut y avoir avant tout traitement de  $10^7$  à  $10^9$  bacilles, c'est-à-dire une population semblable à celle qui dans la tuberculose expérimentale de la souris traitée tardivement, conduit au développement de souches résistantes : on comprend que la même évolution s'observe si souvent dans les cavernes pulmonaires. La notion de la population bacillaire initialement présente est donc fondamentale : c'est elle qui explique qu'en tuberculose humaine, la résistance soit au premier chef un problème de la tuberculose pulmonaire cavitaire.

b) *Concentrations d'antibiotiques arrivant au contact des bacilles.* — Il ne peut y avoir apparition de populations résistantes sans qu'un très grand nombre de bacilles sensibles soient détruits, ce qui présuppose l'arrivée de concentrations de drogue suffisantes au contact des bacilles. Les foyers nécrotiques ramollis et les cavernes, qui contiennent la plupart des germes, sont-ils pénétrés par les agents antibacillaires ? Contrairement à une hypothèse longtemps soutenue (qui s'accordait d'ailleurs mal avec la naissance habituelle des populations résistantes au sein même de ces foyers), les concentrations d'isoniazide et de streptomycine que l'on y trouve sont largement suffisantes pour détruire les bacilles sensibles [6, 11, 12, 27, 36].

Mais il y a lieu de faire ici une restriction ; elle concerne non pas les foyers entiers, mais les cellules (polynucléaires, macrophages) qui s'y trouvent, cellules nullement rares dans les parois de certaines cavernes. *In vitro*, la streptomycine n'agit sur des bacilles intracellulaires que si elle existe dans le milieu environnant à une concentration de 10-25  $\mu\text{g/ml}$ , alors qu'elle agit sur des bacilles extracellulaires à une concentration de 0,5  $\mu\text{g/ml}$  [4, 22]. La streptomycine se distingue en cela de l'isoniazide [22], qui agit sur les bacilles extra- et intracellulaires à la même concentration (0,02-0,04  $\mu\text{g/ml}$ ) : cette différence pourrait expliquer en partie l'efficacité plus grande de l'isoniazide dans le traitement de la tuberculose. L'infériorité de la streptomycine est probablement d'autant plus marquée que le type de tuberculose traité comporte une plus grande *durée de séjour intracellulaire* des bacilles : l'exemple de la tuberculose de la souris tend à le prouver, qui est à prédominance intracellulaire et qui réagit fort peu aux doses

habituelles de streptomycine [17, 34]. Les concentrations de streptomycine nécessaires à une destruction des bacilles intracellulaires ne sont pas régulièrement atteintes dans les cavernes tuberculeuses ; cette insuffisance explique peut-être en partie la survie fréquente de bacilles streptomycino-sensibles au cours de streptomycinothérapies même prolongées, état de choses très différent de celui qui existe au cours de traitements prolongés par l'isoniazide. Il s'agit là d'un problème très important, qui sera retrouvé plus loin.

Les concentrations d'isoniazide réalisées *in vivo* ont ceci de particulier qu'elles varient considérablement d'un malade à l'autre [3, 15, 21, 39]. Les différences, qui peuvent aller de 1 à 10, et même au-delà, tiennent à ce qu'une partie de l'isoniazide administré est inactivée par acétylation [20], et que cette partie est très variable d'un malade à l'autre ; elle représente une sorte de constante d'ordre constitutionnel. Il est tout à fait exceptionnel que les taux d'isoniazide actif subsistant après ce processus de dénaturation soient, avec la dose thérapeutique habituelle (300 à 400 mg par jour), *en deça* du seuil nécessaire à une destruction des bacilles sensibles ; mais il n'est pas rare qu'ils soient suffisamment faibles pour ne sélectionner que des mutants très bas. Pour ce qui est du taux d'isoniazide qui opère à l'intérieur des foyers, des recherches récentes ont montré l'intérêt diagnostique du taux maximum d'isoniazide actif (non acétylé) *du sang* des malades, au cours du traitement : les populations résistantes que l'on trouve dans les foyers, après isoniazidothérapie d'une certaine durée, ne sont presque jamais d'une résistance inférieure au taux sanguin, ce qui indique que c'est bien par un taux de cet ordre que la sélection intrafocale se produit [10]. Il arrive toutefois que des bacilles d'une résistance inférieure au taux sanguin, voire totalement sensibles, se rencontrent dans les foyers, mais il s'agit alors de bacilles très rares, qui ont la valeur de « persistants », phénomène déjà évoqué. Lorsque des populations importantes existent dans les foyers, c'est-à-dire lorsque la multiplication a continué au cours du traitement, les résistances se situent au-dessus du taux sanguin maximum d'isoniazide [10].

c) *Facteurs favorables à la multiplication des mutants résistants.*

— Les mutants résistants des souches sauvages, on l'a vu, sont en nombre infime ; pour devenir une véritable *population* au sein des foyers, il faut qu'ils s'y multiplient. La question de savoir si les conditions nécessaires à une multiplication bacillaire existent durablement dans les foyers tuberculeux a donc en matière de résistance une grande importance.

Dans les infections tuberculeuses *expérimentales*, les conditions nécessaires à la multiplication des mutants résistants apparaissent *a priori* peu favorables. En laissant même de côté l'atté-

nuation de virulence des mutants isoniazido-résistants, c'est-à-dire leur aptitude moindre à se multiplier dans les tissus, il y a lieu de tenir compte de *l'immunisation* de l'hôte. On infecte en général les animaux avec une forte dose d'une souche sensible et l'on recherche si, sous antibiothérapie, des populations résistantes vont faire leur apparition. Or, le nombre de bacilles sensibles ainsi introduit dans l'organisme est suffisant pour engendrer rapidement une forte immunité spécifique, c'est-à-dire pour créer un puissant facteur d'opposition à la prolifération des mutants résistants. C'est vraisemblablement là la raison pour laquelle il n'apparaît point de populations résistantes dans de nombreuses circonstances expérimentales. On peut même s'étonner qu'il n'en soit pas régulièrement ainsi, comme par exemple dans l'expérience de la souris relatée plus haut ; il n'est pas certain que de pareils cas s'expliquent de manière satisfaisante par des questions de nombre (mutants résistants déjà trop nombreux lorsque l'immunité devient efficace) : dans ces échecs de l'immunité, des facteurs encore inconnus pourraient avoir leur part.

Chez *l'homme*, dont la tuberculose est habituellement chronique, c'est-à-dire soustraite précocement à la prépondérance des facteurs généraux, il y a lieu d'attacher une particulière importance aux *facteurs locaux* permettant ou empêchant la multiplication des mutants résistants. A cet égard, on ne s'étonnera pas que dans la plupart des tuberculoses *extrapulmonaires*, il n'y ait pas apparition de populations résistantes ; si les conditions existant dans le foyer *dès avant le début du traitement* n'ont pas permis le développement de très grands nombres de bacilles, il serait paradoxal que des conditions plus favorables s'installent *pendant* le traitement, lorsque, sous l'influence de la destruction bacillaire en cours, les processus de réparation tissulaire ont déjà commencé. Ce facteur s'ajoute à celui, précédemment décrit, du peu de chances que ces populations ont de contenir *initialement* des mutants résistants ; il s'agit en fait de la même condition locale, considérée ici dans sa permanence.

Dans les *cavernes pulmonaires*, les facteurs locaux sont tout autres ; ils réalisent une conjonction très favorable à la multiplication des bacilles. Deux facteurs sont décisifs à cet égard : la *nécrose liquide intracavitaire*, qui empêche dans une large mesure le jeu des agents de l'immunité, et *l'oxygénation privilégiée* qui règne à l'intérieur de la cavité, du fait de la bronche de drainage ouverte [8] ; elle assure au bacille tuberculeux, germe strictement aérobie, une pression d'oxygène voisine de celle qui existe dans l'atmosphère, alors que les bacilles des lésions non aérées se trouvent au meilleur cas à la pression d'oxygène du sang veineux, qui est cinq fois moindre. C'est cette constellation locale très particulière qui explique les énormes populations de bacilles



tuberculeux qui se développent dans les cavernes pulmonaires. Sous chimiothérapie imparfaite, elle doit favoriser à l'extrême la multiplication des mutants résistants, et c'est ce que les faits confirment.

Il n'est pas sans intérêt d'examiner en ce domaine l'aspect *quantitatif* des choses. Les chiffres que nous apportons proviennent de la série de 614 cavernes tuberculeuses étudiées par ensemencement et déjà évoquées plus haut. Sur 270 cavernes qui, réséquées après chimiothérapie, contenaient une population résistante à l'un au moins des agents antibacillaires employés, 161, soit 60 p. 100, ont montré la présence (pour une semence constante et par tube de culture) d'un nombre de bacilles viables de l'ordre de  $10^5$  (c'est-à-dire, allant de  $10^4$  à  $10^6$ ) ; 68 cavernes, soit 25 p. 100 des cas, un nombre de bacilles viables de l'ordre de  $10^3$  (allant de  $10^2$  à  $10^4$ ), et 41, soit 15 p. 100 des cas, un nombre de bacilles viables de l'ordre de  $10^1$  (allant de  $10^{-1}$  à  $10^2$ ). Près des 2/3 des cavernes contenaient ainsi une population très élevée. Son volume *global* peut être estimé. Ces cavernes contenaient presque toujours du matériel nécrotique bacillifère en abondance ; la semence ayant fourni, par tube de culture, le nombre moyen de  $10^5$  bacilles viables, représentait environ 1/100<sup>e</sup> à 1/500<sup>e</sup> du matériel bacillifère total. La population globale se situe donc, dans ces cavernes, entre  $10^6$  et  $10^9$  bacilles : *elle est du même ordre de grandeur que celle qui existe dans des cavernes tuberculeuses non traitées*. (Les différences d'un cas à l'autre sont assurément très grandes, mais elles existent également dans les cavernes non traitées). Ainsi, des conditions locales inchangées permettent la reconstitution, à partir de mutants initiaux très rares, de populations égales à celles qui existent en l'absence de toute chimiothérapie. Ce fait est fondamental. Il prouve que la sélection de mutants résistants dans un milieu particulièrement favorable à la multiplication bacillaire est un fait très grave.

d) *Suppression par la chimiothérapie des facteurs favorables à la multiplication des mutants résistants. Les bacilles résistants persistants.* — La multiplication des mutants résistants sélectionnés dans la caverne ne se produit pas toujours. On se souvient que, parmi les 270 cavernes étudiées plus haut, 41, soit 15 p. 100, ne montraient, pour la semence choisie, qu'un nombre de bacilles moyen de  $10^1$ . Ces cavernes, très avancées dans la guérison, contenaient beaucoup moins de matériel nécrotique bacillifère que les précédentes, ou même n'en contenaient pas du tout ; c'est donc par un coefficient bien inférieur à 500, et même à 100, qu'il faut multiplier dans ces cas le résultat de la culture pour obtenir la population globale. *Il s'agit donc de populations minimales*. Comment expliquer qu'elles ne soient pas devenues plus

grandes ? Deux facteurs peuvent être ici invoqués. Les populations retrouvées dans ces cas ne sont habituellement résistantes qu'à l'isoniazide seul, et on conçoit aisément que s'il y a eu administration simultanée et constante d'un autre agent antibacillaire, auquel les bacilles sont encore sensibles, ce soit cet agent qui ait empêché leur multiplication. De pareils cas de chimiothérapie satisfaisante existaient effectivement en proportion plus grande parmi les 41 cavernes à population minime que parmi les 161 cavernes à population très élevée. Mais ce facteur n'explique pas tout ; car il existe des cas de chimiothérapie insuffisante, c'est-à-dire sans administration constante d'un second antibiotique, parmi les cavernes à population minime. Il faut alors invoquer un facteur d'une nature très différente, qui intervient très vraisemblablement jusqu'à un certain point dans *tous* les cas où la population trouvée à l'intérieur d'une caverne est minime ; le changement radical des conditions biologiques intracavitaires qui se produit au cours de la chimiothérapie, du fait de la destruction de l'immense majorité de la population bacillaire sensible.

Ce facteur est d'une grande importance. Il a déjà été évoqué lors de la discussion des bacilles persistants. Les processus de réparation tissulaire qui se déclenchent dans la caverne, du fait de l'effondrement de la population sensible, peuvent conduire à deux états anatomiques différents. Le premier est la *détérioration* des parois de la caverne : il y a alors suppression du milieu protecteur des bacilles, la nécrose liquide. Le second, le plus fréquent, est la *solidification progressive de la nécrose cavitaire* ; elle s'accompagne le plus souvent de l'occlusion de la bronche cavitaire : les bacilles perdent alors leur oxygénation privilégiée. Dans les deux cas, lorsque les transformations sont pleinement réalisées, les conditions de végétation des bacilles à l'intérieur de la caverne sont complètement changées.

La question est cependant de savoir si l'évolution vers ces états se produit suffisamment vite pour peser concrètement sur la multiplication des mutants résistants. En fait, une sorte de compétition s'établit au cours de toute chimiothérapie entre la réparation anatomique de la caverne et la prolifération des mutants résistants. Si c'est le premier processus qui l'emporte, les mutants perdent les conditions biologiques privilégiées qui existaient à l'intérieur de la caverne et ne deviennent pas nombreux ; si c'est le second, la caverne, malgré la destruction massive des bacilles sensibles, se retrouve avec une population suffisante, de nature résistante cette fois, pour qu'une certaine suppression intracavitaire persiste et que la réparation anatomique n'atteigne point un degré qui change radicalement le milieu local. Dans cette course contre la montre, la victoire appartient tantôt à l'une, tantôt à l'autre évolution ; parfois, le cas reste indécis. L'influence inhi-

bitrice que la transformation anatomique de la caverne peut exercer sur la multiplication des mutants résistants conduit à une conclusion pratique : il y a grand intérêt, en vue de peser sur cette multiplication, à transformer au plus vite le milieu de culture si redoutable que constitue la caverne, c'est-à-dire à réaliser le plus rapidement possible la condition première de cette transformation, la destruction de la population sensible. *Toute mesure chimiothérapique qui accélère la destruction des bacilles sensibles lutte de manière indirecte contre l'apparition de populations résistantes.*

Les cas qui viennent d'être décrits, populations résistantes minimales dans des cavernes radicalement transformées, réalisent le tableau de *la persistance de mutants génétiquement résistants*, annoncé plus haut. La fréquence absolue de ces cas n'est pas connue, puisqu'on ne dispose pas, chez les malades guéris par la seule chimiothérapie, du résidu cavitairé nécessaire pour les déceler. Chez les malades avec résection chirurgicale complémentaire (614 cavernes étudiées), ils représentent 7 p. 100 du total des cavernes, 15 p. 100 des cavernes restées positives. Les bacilles persistants retrouvés étaient dans la majorité des cas, vingt-huit fois sur 41, résistants au seul isoniazide, alors même que d'autres agents avaient été associés, éventualité la plus fréquente. Un fait est très important : *les persistances à bacilles isoniazido-résistants sont, dans les cavernes, incomparablement plus fréquentes que les persistances à bacilles isoniazido-sensibles.* Elles le sont déjà pour des traitements de six à neuf mois ; pour des traitements d'un an, la différence devient écrasante. — Le sort ultime de ces bacilles persistants résistants est variable. Si, les conditions locales ayant changé, ils parviennent un jour à se multiplier avec vigueur, ils sont à l'origine d'une rechute clinique tardive, à bacilles isoniazido-résistants ; de pareils cas existent [37]. S'ils atteignent des nombres considérables, et que le malade ne reçoive plus d'isoniazide, les conditions sont réalisées pour que *des mutations en retour vers la sensibilité* se produisent ; et l'on constatera parfois la sélection spontanée des mutants sensibles réapparus, du fait de leur virulence plus grande. De pareils cas, nécessairement très rares, ont été décrits chez le singe par Schmidt [33] ; ils existent presque sûrement chez l'homme, mais ne peuvent être identifiés de manière certaine comme mutations en retour, parce que les conditions dans lesquelles on les observe sont d'une complexité telle que bien d'autres interprétations sont également possibles. Le sort habituel des bacilles persistants résistants est probablement la *disparition spontanée*, sans aucun de ces accidents.

### 3° MOYENS DE PRÉVENIR L'APPARITION DE POPULATIONS RÉSISTANTES.

— Avant d'indiquer sommairement quels sont ces moyens, il est

nécessaire de préciser un point important. La prévention de la résistance à un antibiotique donné n'a pas de sens si elle conduit à employer cet antibiotique de manière si parcimonieuse que les foyers du malade conservent d'importantes populations sensibles. Car le but de l'antibiothérapie est évidemment de supprimer les grandes populations bactériennes, elle n'est pas de les conserver à l'état sensible. Telle a pourtant été l'attitude adoptée en chimiothérapie de la tuberculose à l'époque où l'on ne disposait que d'une seule drogue, la streptomycine ; par de savantes diminutions de la dose injectée, de la fréquence des injections et de la durée totale du traitement, on arrivait dans de nombreux cas à conserver les populations à l'état sensible ; mais c'était au prix de l'efficacité du traitement ; on éludait en quelque sorte l'acte chimiothérapique maximal, pour en voir moins souvent le phénomène d'accompagnement déplaisant, la résistance. L'inefficacité de la streptomycine isolée, même employée à forte dose, à l'égard des bacilles des cavernes, sa toxicité, le souci de pouvoir agir sur la population bacillaire en cas d'acte chirurgical complémentaire, pouvaient justifier jusqu'à un certain point cette manière de faire ; elle n'en a pas moins faussé l'optique en matière de prévention de la résistance. Celle-ci n'a de sens que si elle aboutit à diminuer considérablement, voire à supprimer totalement, les populations bacillaires présentes.

On a vu précédemment qu'une transformation anatomique de la caverne rend moins favorables les conditions locales de multiplication des mutants résistants. Ce moyen d'action, de par sa nature indirecte, n'a probablement qu'un effet d'appoint. Il existe deux moyens *directs* de combattre l'apparition d'une population résistante à un antibiotique donné : administrer des doses très fortes de cet antibiotique, lui associer d'emblée un second antibiotique, à l'égard duquel il n'y ait point résistance croisée. Le premier moyen est le moins efficace et ne vaut d'ailleurs que pour l'isoniazide ; le second vaut pour tous les agents antibacillaires.

a) *Fortes doses.* — On se souvient que, quelles que soient les doses d'isoniazide ou de streptomycine mises en œuvre, leur emploi isolé ne permet pas une prophylaxie *certaine* de la résistance correspondante, parce que les concentrations de drogue réalisables dans l'organisme restent bien en deçà du taux de résistance des mutants les plus élevés. Toutefois, des doses élevées d'isoniazide isolé réalisent une prophylaxie *relative* de l'isoniazido-résistance.

L'exemple suivant (qui correspond d'ailleurs à une éventualité extrême) en fait comprendre le mécanisme. Soit une souche qui comporte à l'état sauvage un mutant résistant à 0,1  $\mu\text{g/ml}$  d'isoniazide sur  $10^4$  bacilles, et un mutant résistant à 1  $\mu\text{g/ml}$  d'iso-



niazide sur  $10^6$  bacilles ; et soit une caverne qui contienne au début du traitement  $10^7$  bacilles d'une pareille souche. Si le traitement est tel qu'il ne réalise dans la lésion qu'une concentration de  $0,09 \mu\text{g/ml}$  d'isoniazide, il y laissera survivre  $10^3$  mutants résistants ; mais s'il est tel qu'il réalise dans la lésion une concentration de  $0,9 \mu\text{g/ml}$  d'isoniazide, il y laissera survivre  $10^1$  mutants résistants. Or, les chances pour que les mutants survivants ne soient pas détruits par les agents de l'immunité ou par quelque autre mécanisme, c'est-à-dire les chances pour qu'une grosse population résistante se développe, sont de toute évidence bien plus grandes s'il y a au départ  $10^3$  bacilles que s'il n'y en a que  $10^1$ . C'est de cette manière que de fortes doses d'isoniazide isolé luttent contre l'apparition de la résistance : elles augmentent la probabilité pour qu'au terme du traitement, il ne subsiste dans la lésion que des populations résiduelles minimales ou nulles. Mais il va de soi que si les mécanismes d'appoint nécessaires pour empêcher la multiplication de ces bacilles résiduels ne fonctionnent pas, les grandes populations qui se développeront seront, avec les fortes doses d'isoniazide, d'un niveau de résistance plus élevée qu'avec les doses faibles. D'un point de vue pratique, cela importe d'ailleurs fort peu.

b) *Association*. — L'autre moyen préventif de la résistance consiste en l'emploi simultané de deux agents antibacillaires. Le mécanisme de cette prophylaxie est bien connu : l'agent A agit sur les mutants résistants à B, l'agent B sur les mutants résistants à A ; comme les chances pour qu'une population sauvage contienne des mutants résistants à A et B *à la fois* sont infimes (1), le développement de populations résistantes est empêché à la base. Il va de soi que ce mécanisme n'est opérant que s'il n'y a point de résistance croisée entre A et B, ce qui est le cas pour toutes les associations actuellement employées en tuberculose. La chimiothérapie associée est devenue le fondement de la thérapeutique

(1) Dans une souche sauvage, la fréquence des mutants résistants à deux agents est égale au produit de la fréquence des mutants résistants à chaque agent isolément. Cette déduction théorique a été vérifiée dans un cas précis, celui des mutants de *Bacillus megaterium* résistants à la fois à l'isoniazide et au PAS [38]. Dès lors, s'il y a dans une souche de bacilles tuberculeux un mutant résistant à  $1 \mu\text{g/ml}$  d'isoniazide sur  $10^6$  bacilles, et un mutant résistant à  $10 \mu\text{g/ml}$  de streptomycine sur  $10^7$  bacilles, il y aura un mutant *résistant aux deux agents* sur  $10^{12}$  bacilles. Un pareil nombre n'est probablement jamais atteint dans une tuberculose de l'homme, même si l'on additionne les populations de tous les foyers. On verra plus loin la restriction qu'il y a lieu d'apporter à cette affirmation, pour ce qui est des mutants de résistance très faible.

antituberculeuse. On a vu lors de l'étude de la stérilisation cavitaires les résultats remarquables qu'elle donne. Encore faut-il que les conditions de son efficacité, énumérées plus haut, soient respectées. L'une des plus importantes est que la souche du malade soit, au début du traitement, normalement sensible aux deux agents employés. Si elle ne l'est qu'à l'un des deux, la prévention de la résistance à cet agent est gravement compromise.

L'association la plus efficace actuellement connue — parmi celles qui ont été étudiées sur une vaste échelle — est celle de l'isoniazide et de la streptomycine. Théoriquement, et à condition que les bacilles du malade soient d'une sensibilité normale aux deux agents, elle devrait agir *dans tous les cas*. Tout au plus, pourrait-elle laisser survivre dans quelques cas des « persistants », sensibles ou résistants ; mais *dans tous les cas*, elle devrait empêcher l'apparition d'importantes populations résistantes. En fait, il n'en est pas ainsi ; dans certains cas, assurément rares. L'association échoue dans la prévention de ces multiplications. Il est important d'examiner de plus près les causes possibles des échecs, car elles valent probablement, avec quelques variantes, pour tous les cas d'échec des chimiothérapies associant à l'isoniazide un deuxième agent. (C'est là le groupe des chimiothérapies les plus efficaces). Le problème est encore loin d'être élucidé, et les deux causes qui seront discutées ici gardent un caractère d'hypothèse.

Dans certains cas, l'échec pourrait être dû à la présence, dans la population cavitaires, de mutants *d'emblée résistants aux deux agents* : il s'agirait de mutants d'une résistance extrêmement basse. En effet, il est pratiquement exclu, ainsi qu'il a été dit plus haut, qu'une caverne, et même plusieurs cavernes réunies, contiennent les  $10^{12}$  bacilles nécessaires pour qu'un mutant résistant à  $1\text{ }\mu\text{g}$  d'isoniazide et  $10\text{ }\mu\text{g}$  de streptomycine *à la fois* s'y trouve. Mais il n'est pas du tout exclu qu'une caverne contienne le nombre de bacilles nécessaire pour qu'un bacille résistant à la fois à  $0,1\text{ }\mu\text{g}$  d'isoniazide et  $1\text{ }\mu\text{g}$  de streptomycine s'y trouve, car la population permettant cela est beaucoup plus faible. Elle est, d'après la théorie, de l'ordre de  $10^7$  à  $10^8$  bacilles, c'est-à-dire de l'ordre de celles que l'on rencontre dans les cavernes. La présence de pareils mutants dans la population cavitaires initiale est donc possible. Si les taux d'isoniazide et de streptomycine que le traitement réalise dans la caverne sont exceptionnellement bas, c'est-à-dire inférieurs à  $0,1\text{ }\mu\text{g/ml}$  d'isoniazide et  $1\text{ }\mu\text{g/ml}$  de streptomycine, il y aura sélection de ces mutants de résistance double, et le point de départ d'une grosse population résistante existera.

L'autre facteur d'échec intervient vraisemblablement plus souvent. Ce qui caractérise les populations streptomycino-résistantes, quelles que soient par ailleurs les conditions thérapeutiques dans

lesquelles elles sont apparues, c'est qu'elles contiennent souvent une forte proportion de bacilles streptomycino-sensibles ; tout autre chose, de par le nombre, que des « persistants ». Elles s'opposent en cela aux populations isoniazido-résistantes, qui, passé une certaine durée de traitement, sont le plus souvent composées uniquement de bacilles isoniazido-résistants. *In vivo*, l'action antibacillaire de la streptomycine est donc assez imparfaite : si elle ne l'était pas, elle ne laisserait pas survivre aussi souvent une forte proportion de bacilles streptomycino-sensibles. Or, cette imperfection d'action de la streptomycine doit également jouer lorsqu'on l'associe à l'isoniazide pour combattre les mutants isoniazido-résistants. Ces mutants sont initialement très rares, et c'est pourquoi la streptomycine produit habituellement l'effet escompté ; mais on peut concevoir que dans les cas où sa défaillance est particulièrement prononcée, elle laisse se développer une appréciable population d'isoniazido-résistants — dont la sensibilité à la streptomycine sera par ailleurs, pendant longtemps, quasi-normale. Telle est effectivement le type de population que l'on trouve le plus souvent dans les cas d'échec de l'association. Quant aux causes de l'imperfection d'action de la streptomycine, l'une d'entre elles a déjà été évoquée : l'inefficacité de cet agent sur les bacilles intracellulaires. Mais on remarquera que ce facteur ne peut intervenir qu'initialement, car les bacilles, en se multipliant, détruisent la cellule qui les héberge et deviennent extracellulaires. D'autres facteurs, encore mal élucidés, doivent être également en cause.

Le mécanisme qui vient d'être discuté a une très grande importance. Il peut intervenir vraisemblablement dans toute association chimiothérapique dans laquelle l'agent accompagnant l'isoniazide a la même imperfection d'action que la streptomycine, c'est-à-dire laisse subsister dans la population une importante proportion de bacilles sensibles. Le corollaire de cet état de choses, c'est que seul un agent dont l'efficacité *in vivo* serait du même ordre que celle de l'isoniazide parviendrait, en association avec l'isoniazide, à prévenir dans tous les cas le développement d'importantes populations résistantes. Cette association chimiothérapique idéale n'existe pas encore.

Pour terminer, on remarquera qu'il y a intérêt, pour prévenir l'isoniazido-résistance, à employer simultanément les deux moyens de prévention dont on dispose, un agent antibacillaire associé et de fortes doses d'isoniazide : car les mutants isoniazido-résistants qui échappent à l'un de ces moyens ne sont pas exactement les mêmes que ceux qui échappent à l'autre. Dans le cas des fortes doses d'isoniazide, on l'a vu plus haut, ce sont les mutants de résistance élevée (supérieure au taux d'isoniazide réalisé dans la caverne) qui échappent ; dans le cas d'un deuxième agent, par

exemple la streptomycine, ce sont des mutants de n'importe quel degré de résistance qui échappent, mutants dont la sélection est réglée par les imperfections d'action de la streptomycine (siège intracellulaire, etc.). Cette considération, toutefois, est théorique. Il y a lieu de ne point la négliger lorsqu'on se trouve devant un cas de tuberculose cavitaires particulièrement sévère, avec une population bacillaire que l'on peut supposer formidable ; dans de pareils cas, il y a même lieu d'associer un troisième agent, par exemple, l'acide para-amino-salicylique. Mais, dans les cas moyens, la situation n'est pas telle, les résultats déjà obtenus le prouvent, pour qu'il faille se livrer systématiquement à une pareille agression thérapeutique : car, poursuivie longtemps, elle conduit assez souvent à des phénomènes toxiques.

Un dernier mot sur le choix entre l'association à l'isoniazide d'un deuxième agent, et les fortes doses d'isoniazide isolé. Lorsque ce choix est concrètement possible, il faut sans hésiter avoir recours au premier moyen : car son efficacité est déjà prouvée par des dizaines de milliers de cas, tandis que l'efficacité des fortes doses d'isoniazide isolé est encore à l'étude et a toutes chances d'être statistiquement moins grande. D'ailleurs, si les phénomènes d'adaptation évoqués plus loin jouent également un rôle — un rôle adjuvant — dans le développement de fortes populations résistantes, un traitement par deux agents devrait apporter *a priori* un facteur d'efficacité supplémentaire, puisque le second agent annihilerait pendant un certain temps les effets de l'adaptation des bacilles au premier. Mais il existe des circonstances épidémiologiques et économiques où la chimiothérapie associée ne peut être appliquée : c'est le cas pour beaucoup de malades dans les pays sous-développés. Il faut alors avoir recours sans hésiter au second moyen, l'isoniazide isolé à fortes doses. Facile à employer ambulairement, et très bon marché, il est appelé à rendre de très grands services.

#### IV. — REMARQUES TERMINALES.

La longue discussion des phénomènes de persistance et de résistance qui vient d'être faite ne doit pas conduire à une appréciation pessimiste de la chimiothérapie antituberculeuse actuelle. Rien ne serait plus contraire aux faits d'ensemble apportés par cet exposé. Les résultats de la chimiothérapie antituberculeuse actuelle sont admirables, un faisceau de données biologiques, cliniques et épidémiologiques recueillis un peu partout dans le monde le prouve. Il est vrai que les phénomènes de persistance et de résistance jouent un rôle considérable au cours de la chimiothérapie de la tuberculose ; mais ces deux écueils, on l'a vu, sont, dans une très large mesure, évitables par certaines modalités du



traitement, parmi lesquelles l'utilisation constante de l'isoniazide, l'adjonction habituelle d'un deuxième agent et la très longue durée du traitement tiennent la première place. Lorsque ces modalités sont respectées, les résultats de la chimiothérapie antituberculeuse sont d'ores et déjà tels qu'ils permettent de prévoir l'*éradication* de la tuberculose des pays les plus évolués. Il s'agit évidemment d'un avenir à longue échéance.

Mais les problèmes à résoudre restent encore très nombreux. Les plus importants, dans la perspective de l'*efficacité globale de la lutte contre la tuberculose*, sont d'ordre économique et psychologique autant que biologique : trouver les moyens pour que tout tuberculeux, où qu'il soit, puisse être traité par les agents chimiques ; faire en sorte que la chimiothérapie prescrite soit qualitativement et quantitativement suffisante ; enfin, obtenir qu'elle soit effectivement prise par les malades. La solution de ces problèmes, dont les deux derniers peuvent paraître simples, est hérissée de difficultés, et il faudra de longues années pour que l'état de choses actuel, encore très peu satisfaisant, change. C'est de là précisément que découlent les problèmes *thérapeutiques* qui se posent en tuberculose. S'il faut encore et toujours chercher de nouveaux agents antibacillaires, c'est parce qu'un nombre considérable de malades, à travers le monde, sont incorrectement traités, que ce soit par la faute de leur médecin ou par la leur propre, et acquièrent ainsi des populations résistantes aux agents actuels. Il faut donc sans cesse de nouveaux agents. On sait quels apports remarquables ont été faits récemment en ce domaine. Mais un second agent aussi efficace que l'isoniazide n'a pas encore été trouvé, et, de ce fait, l'association chimiothérapique idéale, celle qui préviendrait dans *tous les cas* le développement d'importantes populations résistantes, n'existe pas encore. Rien ne permet de penser *a priori* que la découverte d'un pareil agent soit une chimère.

Les problèmes *biologiques*, eux, se pressent en foule, et il serait bien présomptueux de dire que les mécanismes par lesquels la chimiothérapie transforme les populations des foyers tuberculeux sont pleinement élucidés. A cet égard, une remarque doit être faite au sujet du mécanisme de base de la résistance ; elle terminera utilement cet exposé.

Les faits apportés ici ont été constamment interprétés dans la perspective de la théorie *mutation-sélection* de la résistance. On sait en quoi consiste cette théorie : les bactéries résistantes à un agent donné apparaissent par des mutations non-induites par cet agent : son action se borne à sélectionner les mutants. L'intervention du mécanisme mutation-sélection dans l'apparition de la résistance n'a pas été prouvée concrètement dans le cas du

bacille tuberculeux ; mais elle l'a été pour quelques autres espèces microbiennes, alors que l'autre mécanisme possible, l'*adaptation*, n'a pas été prouvé dans un seul cas, tout au moins en tant que mécanisme de base de la résistance. Il est donc très vraisemblable qu'en tuberculose aussi, l'apparition des populations résistantes est régie par le mécanisme mutation-sélection. Mais cet état de choses n'exclut nullement que des phénomènes d'adaptation jouent en ce domaine un rôle fort important. L'adaptation pourrait avoir une influence notable sur le *degré de multiplication* des bacilles résistants sélectionnés.

L'observation suivante, que l'on peut faire facilement, à condition d'employer des techniques quantitatives, est assez évocatrice à cet égard. A un premier isolement, des bacilles tuberculeux d'un certain niveau de résistance produisent, sur du milieu *contenant un taux d'antibiotique proche du taux-limite de leur résistance*, des colonies petites et dysgoniques, alors qu'ils produisent sur du milieu sans antibiotique, ou avec peu d'antibiotique, des colonies d'aspect normal. Mais à des passages ultérieurs, le milieu contenant les taux-limite d'antibiotique permet lui aussi le développement de colonies normales : tout se passe comme si un mécanisme métabolique génétiquement préétabli chez les mutants résistants, mais de rendement faible, s'était perfectionné au contact de l'antibiotique. Il existe encore bien d'autres faits, plus complexes, qui vont dans le même sens. On conçoit que dans une infection où la multiplication des germes est lente, conditionnée par des exigences nutritives très complexes, et facilement perturbée par des changements de milieu, l'utilisation meilleure d'un agent disponible en permanence puisse avoir, sur le volume de la population bacillaire finalement présente, une influence considérable. Ces faits ont été jusqu'ici peu explorés en tuberculose ; ils mériteraient de l'être ; certains phénomènes observés dans les populations bacillaires sous chimiothérapie pourraient en recevoir une explication plus satisfaisante. Mais il est peu probable que les conceptions actuelles du mécanisme de la résistance en soient radicalement changées, tout au moins pour ce qui est des phénomènes de base.

## V. — RÉSUMÉ.

I. — Les grands agents antibacillaires sont bactéricides. C'est à ce caractère qu'il faut vraisemblablement attribuer le fait que des foyers tuberculeux extrêmement bacillifères, et dans lesquels les agents de l'immunité ne peuvent guère intervenir, sont trouvés stérilisés après chimiothérapie. Sur 614 cavernes pulmonaires humaines, réséquées chirurgicalement après chimiothérapie, 228, soit 37 p. 100, ont été trouvées stériles. Etant donné que les

cavernes ainsi étudiées représentent une sélection de cas défavorables, le taux des stérilisations pour l'ensemble des cas de tuberculose cavitaire, traités par les agents chimiques doit être considérablement plus élevé. Cliniquement, plus de 80 p. 100 des tuberculoses cavitaires guérissent par une bonne chimiothérapie.

II. — Les grands agents antibacillaires n'agissent pas sur certains bacilles génétiquement sensibles, mais qui se trouvent dans un état de vie métabolique très réduite. Ces bacilles, appelés « persistants », sont observés dans différentes circonstances expérimentales. Chez l'homme, les conditions biologiques qui règnent dans les foyers caséux pleins, et plus encore dans les cavernes en voie de guérison, sont favorables à la survie de pareils bacilles. C'est pour attendre en toute sécurité leur disparition — soit par mort spontanée, soit par retour de leur réceptivité aux agents antibacillaires, lors d'un épisode de reprise de leur vie métabolique active — qu'il y a lieu de traiter toute tuberculose cavitaire très longtemps.

III. — Dans toute souche de bacilles tuberculeux non encore exposée aux agents antibacillaires, il existe des mutants résistants à ces agents. Pour que ces mutants deviennent l'essentiel de la population bacillaire, ce qui réalise le phénomène de résistance, une conjonction de trois conditions est nécessaire : une population bacillaire initialement élevée, des concentrations d'antibiotiques suffisantes arrivant au contact des bacilles, une persistance de facteurs généraux ou locaux favorables à la prolifération des bacilles. La première condition explique que la résistance n'apparaisse ni dans les tuberculoses extrapulmonaires, ni dans les tuberculoses pulmonaires purement nodulaires, car les bacilles y sont peu nombreux. La deuxième condition est presque toujours réalisée. La troisième condition explique que la résistance s'observe au premier chef dans la tuberculose pulmonaire cavitaire, car les conditions de végétation offertes aux bacilles dans les cavernes sont idéales. Les populations résistantes qui se reconstituent dans les cavernes à partir de quelques mutants sont du même ordre de grandeur que les populations de bacilles sensibles initialement présentes. Il existe cependant des cas où les mutants résistants ne se multiplient pas, réalisant alors le phénomène des *bacilles persistants résistants*.

La prévention de la résistance s'opère par l'administration simultanée de deux agents antibacillaires ; dans le cas de l'isoniazido-résistance, elle peut également s'opérer, jusqu'à un certain point, par l'administration d'isoniazide seul à très forte dose. Le premier mode de prévention est de beaucoup le plus fréquemment employé, et le plus efficace. Il comporte quelques échecs. Leur mécanisme n'est pas encore complètement élucidé.

## BIBLIOGRAPHIE

- [1] BARSKI (G.). *Ann. Inst. Pasteur*, 1948, **74**, 1.  
[2] BARTMANN (K.). [*Sous presse.*]  
[3] BELL (J. C.) et RIEMENSNIER (D. K.). *Am. Rev. Tub.*, 1957, **75**, 992 et 995.  
[4] BERNARD (E.) et KREIS (B.). *Presse méd.*, 1951, **59**, 385.  
[5] BIGGER (J. W.). *Lancet*, 1944, **2**, 497.  
[6] BOURGEOIS (P.), SAVEL (J.), BUBOIS-VERLIÈRE (Th.) et ROLLIN (G.). *Rev. Tub.*, 1956, **20**, 74.  
[7] BOURGEOIS (P.), DUBOIS-VERLIÈRE et MAEL. *Rev. Tub.*, 1958, **22**, 108.  
[8] CANETTI (G.). *Le bacille de Koch dans la lésion tuberculeuse du poumon*, Flammarion, édit., Paris, 1946.  
[9] CANETTI (G.), DEBEYRE (J.) et DE SÈZE (S.). *Rev. Tub.*, 1957, **21**, 1337.  
[10] CANETTI (G.) et GROSSET (G.). *Rev. Tub.*, 1958, **22**, 778.  
[11] CANETTI (G.) et GRUMBACH (F.). *Ann. Inst. Pasteur*, 1953, **85**, 830.  
[12] CANETTI (G.) et GRUMBACH (F.). *C. R. Soc. Biol.*, 1956, **150**, 1136.  
[13] CROFTON (J.). *Beitr. Klin. Tub.*, 1958, **119**, 228.  
[14] GARROD (L. P.). *Am. Rev. Tub.*, 1950, **62**, 582.  
[15] GROSSET (J.), GRUMBACH (F.) et CANETTI (G.). *Ann. Inst. Pasteur*, 1957, **92**, 752.  
[16] GRUMBACH (F.). *Ann. Inst. Pasteur*, 1958, **94**, 694.  
[17] GRUMBACH (F.). VI<sup>e</sup> Congrès de Microbiologie, Rome, 1953, **1**, 553.  
[18] GRUN (H.) et LINNER (W.). *Virch. Arch.*, 1952, **322**, 311.  
[19] HOBBY (G. L.) et LENERT (T. F.). *Am. Rev. Tub.*, 1957, **76**, 1031.  
[20] HUGHES (H. B.), SCHMIDT (L. M.) et BIEHL (J. P.). *Transac. 14<sup>th</sup> Conf. Chem. Tub.*, 1955, 217.  
[21] KASS (J.), RUSSELL (W. F.), HEATON (A.), MYAMOTO (T.), MIDDLEBROOK (G.) et DRESSLER (S. H.). *Ann. Int. Med.*, 1957, **47**, 744.  
[22] MACKANESS (G. B.) et SMITH (N.). *Am. Rev. Tub.*, 1952, **66**, 125.  
[23] MC CUNE (R. M.), TOMPSETT (R.) et Mc DERMOTT (W.). *J. Exp. Med.*, 1956, **104**, 763.  
[24] MC CUNE (R. M.) et TOMPSETT (R.). *J. exp. Med.*, 1956, **104**, 737.  
[25] MC CUNE (R. M.), LEE (S. H.), DEUSCHLE (K.) et Mc DERMOTT (W.). *Am. Rev. Tub.*, 1957, **76**, 1106.  
[26] Mc DERMOTT (W.). *Yale J. biol. Med.*, 1958, **30**, 258.  
[27] MANTHEI (R. W.), ROTH (L. J.), BARCLAY (W. R.) et EBERT (R. H.). *Trans. 12<sup>th</sup> Conf. Chem. Tub.*, 1953, 245.  
[28] MIDDLEBROOK (G.) et YEGIAN (D.). *Am. Rev. Tub.*, 1946, **54**, 553.  
[29] MIDDLEBROOK (G.), COHN (M. L.) et SCHAEFER (W. B.). *Am. Rev. Tub.*, 1954, **70**, 852.  
[30] MIDDLEBROOK (G.). *Am. Rev. Tub.*, 1952, **65**, 765.  
[31] RIST (N.) et GRUMBACH (F.). *Rev. Tub.*, 1952, **15**, 665.



- [31 bis] MITCHISON (D. A.) et SELKON (J. B.). *Am. Rev. Tub.*, 1956, **74**, 109.
- [32] SCHAEFER (B.). *Am. Rev. Tub.*, 1954, **69**, 125.
- [33] SCHMIDT (L. H.), GROVER (A. A.), HOFFMANN (R.), ROHM (J.) et SULLIVAN (R.). *Trans. 17<sup>th</sup> Conf. Chem. Tub.*, 1958, 264.
- [34] SIEBERMAN (Ch. O.). *Am. Rev. Tub.*, 1953, **68**, 411.
- [35] SINGH (B.) et MITCHISON (D. A.). *J. gen. Microbiol.*, 1955, **43**, 176.
- [36] STEENKEN (W.), d'ESPO (N.) et WOLINSKY (E.). *Am. Rev. Tub.*, 1947, **46**, 403.
- [37] STEWART (S.). *Bull. Union int. Tub.*, 1957, **27**, 254.
- [38] SZYBALSKI (W.) et BRYSON (V.). *J. Bact.*, 1953, **66**, 468.
- [39] VIVIEN (J. N.), THIBIER (R.), GROSSET (J.) et LEPEUPLE (A.). *Rev. Tub.*, 1958, **22**, 208.

## **SUR LE POUVOIR PATHOGÈNE DES BACILLES TUBERCULEUX ISONIAZIDO-RÉSISTANTS**

par N. RIST.

*(Institut Pasteur, Service de la Tuberculose)*

Parmi les propriétés particulières aux agents pathogènes résistants aux antibiotiques, peu ont été étudiées avec autant d'attention que l'absence de virulence pour le cobaye de certaines souches de bacilles tuberculeux résistants à l'isoniazide.

Ce phénomène, découvert simultanément en Europe et aux Etats-Unis en 1952 et 1953 (1), semblait en effet comporter des conséquences extrêmement importantes pour la thérapeutique et la prophylaxie de la tuberculose. Jusqu'alors, il était universellement admis qu'il fallait s'efforcer d'éviter l'apparition de la résistance aux médicaments antituberculeux et cela, non seulement pour obtenir la guérison du malade en traitement, mais aussi pour éviter que celui-ci ne devienne, pour son entourage, une source de bacilles particulièrement redoutables.

S'il se confirmait que les bacilles isoniazido-résistants étaient avirulents, l'attitude du chimiothérapeute devrait changer radicalement. Dans tous les cas où l'on aurait échoué à éviter l'apparition de la résistance à l'isoniazide on pourrait s'en consoler : le malade ne serait plus porteur que de bacilles avirulents.

Lui-même devrait guérir rapidement, et au cas où il resterait porteur de germes, ceux-ci seraient sans danger. Allant plus loin encore, certains auteurs pensaient qu'il fallait s'efforcer de provoquer systématiquement la résistance à l'isoniazide. On sait qu'il suffit pour cela de traiter les tuberculeux pulmonaires par l'isoniazide seul : la moitié environ des malades guérissent totalement avant l'apparition de la résistance, et dans l'autre moitié la population bacillaire initialement sensible est remplacée par une population résistante.

Disons tout de suite que ces espoirs ont été déçus et que beaucoup de tuberculeux sont déjà morts, qui n'hébergeaient pourtant que des bacilles isoniazido-résistants et incapables de tuer le cobaye.

(1) Pour la bibliographie complète, consulter les références 6, 10, 11 et 13.

Il n'est pas inutile de rechercher les raisons de cet apparent paradoxe. Nous examinerons successivement :

I. Si les bacilles isoniazido-résistants sont réellement avirulents pour le cobaye.

II. Comment ils se comportent chez l'homme.

III. Comment on peut expliquer les différences de comportement chez l'homme et chez le cobaye.

#### I. — LES BACILLES ISONIAZIDO-RÉSISTANTS SONT-ILS RÉELLEMENT AVIRULENTS POUR LE COBAYE ?

Nous appelons bacille isoniazido-résistant tout bacille qui se multiplie *in vitro* en présence d'une concentration de 0,1  $\mu\text{g}$  d'isoniazide par centimètre cube. Dans une population bacillaire normale dite sauvage, provenant d'un malade qui n'a jamais reçu d'isoniazide, les bacilles sont dans leur immense majorité sensibles à 0,05  $\mu\text{g}$  d'isoniazide, et, dans une telle population on ne trouve pas plus de 1 bacille sur 100 000 qui soit capable de se multiplier en présence de 0,1  $\mu\text{g}$  d'isoniazide. Ce bacille est donc une exception et il est quatre fois moins sensible que la majorité des bacilles. Il mérite le nom de mutant résistant.

*Les mutants isoniazido-résistants du bacille tuberculeux présentent une diversité très remarquable.*

Très schématiquement on peut les classer en deux grands groupes [41] :

a) Le groupe des bacilles fortement isoniazido-résistants, qui résistent au moins à 10  $\mu\text{g}$  d'isoniazide. Ce groupe est relativement homogène, comportant seulement, sauf exceptions rarissimes, des bacilles catalase-négatifs et de pouvoir pathogène très atténué pour le cobaye. Nous préciserons plus loin à quel point ce dernier est atténué.

b) Le groupe des bacilles sensibles à 10  $\mu\text{g}$ , groupe très hétérogène de mutants dont le pouvoir catalasique et le pouvoir pathogène varient considérablement d'une souche à l'autre. Ces deux pouvoirs varient généralement dans le même sens, mais ne semblent pas directement liés au taux de résistance à l'isoniazide. Il existe des mutants résistants à 0,1  $\mu\text{g}$  (et sensibles à 0,2  $\mu\text{g}$ ) qui sont déjà catalase-négatifs et dont le pouvoir pathogène pour le cobaye est très atténué.

Il existe aussi des mutants résistants à 1  $\mu\text{g}$  d'isoniazide qui sont catalase-positifs et dont la virulence pour le cobaye est normale ; c'est-à-dire qu'ils tuent le cobaye en deux à quatre mois, de tuberculose progressive et généralisée, après une inoculation sous-cutanée de  $10^{-5}$  à  $10^{-2}$  milligramme.

Ces mutants à la fois isoniazido-résistants et virulents ont été particulièrement étudiés par Libermann [7], qui a montré que

leur virulence est tantôt remarquablement stable (de même que le taux de leur résistance à l'isoniazide) malgré de nombreux passages *in vitro* et chez l'animal, tantôt plus variable.

Ces souches virulentes représentent 20 à 30 p. 100 des souches du second groupe [10, 12, 13]. Cette proportion prouve combien l'équation « isoniazido-résistance = avirulence », est souvent fausse.

On s'est demandé s'il était possible d'éviter ces mutants de résistance faible, parmi lesquels certains sont virulents. On peut certainement en diminuer considérablement la fréquence (Mandel [9], Canetti [2]). Chez les malades qui ont reçu de l'isoniazide à très fortes doses, ou chez qui, du fait de la faible acétylation de l'isoniazide, on obtient des taux élevés d'isoniazide libre dans le sang, ou enfin chez des malades qui acétylent fortement l'isoniazide, mais pour lesquels on a diminué cette acétylation par association de PAS à fortes doses à l'isoniazide à fortes doses, on observe seulement des mutants résistants à 1  $\mu$ g au moins, et souvent à 5  $\mu$ g. Mais nous venons de voir que ces taux ne sont pas des garanties absolues de non-virulence. De plus nous allons voir que les souches caractérisées à la fois par un taux élevé de résistance et un pouvoir pathogène atténué ne peuvent être considérées comme inoffensives.

Quant aux bacilles isoniazido-résistants dits « non-virulents », qui représentent 70 p. 100 des mutants du deuxième groupe et 100 p. 100 des mutants du premier groupe, il serait plus exact de les caractériser en disant que *leur pouvoir pathogène pour le cobaye est atténué et atténué de façon fort variable*.

On ne peut les assimiler aux souches non virulentes typiques telles que le BCG ou la souche H37Ra. Comme le BCG, ces bacilles atténués sont incapables de tuer le cobaye, même lorsqu'on les inocule par voie sous-cutanée à doses fortes, de l'ordre de 0,1 à 1 mg. Comme le BCG, ils provoquent des lésions d'abord progressives, *puis régressives*. Comme le BCG, ces bacilles cessent rapidement de se multiplier dans l'organisme du cobaye (Meissner [10]).

Mais les lésions sont presque toujours plus généralisées, plus visibles, plus suppurées et plus durables que celles que provoque le BCG. Quatre à six semaines après l'inoculation sous-cutanée de l'une de ces souches, à la dose de 0,1 à 1 mg, on observe une granulie hépatique visible à l'œil nu, une granulie pulmonaire splénique microscopique et des adénopathies suppurées sous-lombaires et trachéo-bronchiques. Les lésions granuliques guérissent en deux à douze mois, selon les souches, les adénites en quatre à dix-huit mois.

Mais la loi de la régression des lésions souffre des exceptions [12]. Tout d'abord il existe, à l'acmé de la phase de généralisation, une période critique pendant laquelle un des cobayes



inoculés peut mourir de granulie aiguë alors que les autres cobayes ayant reçu la même dose de la même souche vont guérir entièrement. A l'autre extrémité de l'évolution, il arrive que les lésions généralisées guérissent entièrement, *sauf dans un organe* (foie, rate, poumon, testicule), où se développe un foyer solitaire, épithélioïde ou même caséeux, qui rappelle les foyers de la tuberculose chronique dite tertiaire de l'homme [12, 8]. Lorsqu'un tel foyer se développe dans le poumon, il peut se former une caverne, où les bacilles pullulent, au moment même où, dans les autres organes, les bacilles meurent et les lésions guérissent. Nous reviendrons plus loin sur la signification de ces cavernes.

Si l'on inocule un grand nombre de souches de pouvoir pathogène atténué, mais très varié, à un grand nombre de cobayes dont la résistance individuelle à l'infection tuberculeuse est également très variée, on observe la même variété de réponses pathologiques que chez l'enfant :

a) Adénopathie apparemment bénigne rapidement suivie de granulie mortelle ;

b) Tuberculose généralisée latente et curable suivie plus tardivement de localisation extra-pulmonaire ou de phthisie ;

c) Tuberculose localisée à la porte d'entrée et aux ganglions voisins, la phase de généralisation restant au stade histologique.

Pour mieux mettre en évidence les différences considérables entre le pouvoir pathogène de ces souches et celui du BCG, on peut employer des artifices, tels que l'inoculation par voie médiastinale ou testiculaire (Coletsos [3]), ou l'inoculation intraveineuse (Et. Bernard, Kreis et Le Joubieux [4]). Les lésions viscérales obtenues alors sont beaucoup plus considérables que celles que provoque le BCG et peuvent tuer le cobaye.

Enfin, chez la souris, l'inoculation intraveineuse de ces souches isoniazido-résistantes provoque des lésions pulmonaires plus ou moins rapidement progressives selon les souches, mais toujours mortelles, alors que le BCG provoque, même à la dose de 1 mg, des lésions pulmonaires toujours spontanément curables (Grumbach [13]).

## II. — COMPORTEMENT DES BACILLES ISONIAZIDO-RÉSISTANTS CHEZ L'HOMME.

On aurait pu penser que les bacilles dits faiblement isoniazido-résistants, catalase-positifs et virulents pour le cobaye seraient seuls nocifs pour l'homme. Il n'en est rien. Une caverne habitée par des bacilles catalase-négatifs et incapables de tuer le cobaye n'a aucune tendance spontanée à la guérison.

Les bacilles s'y multiplient abondamment, et pour certains d'entre eux beaucoup mieux que dans nos milieux de culture. Ils

entretiennent la suppuration, ils provoquent des poussées péri-cavitaires, l'extension de la cavité, ou même des ensemencements de parties restées jusqu'alors saines, et peuvent ainsi provoquer la mort du malade par le même mécanisme que les bacilles normalement virulents [1 bis, 5]. On sait assez que la cavité à bacilles isoniazido-résistants est l'un des problèmes majeurs de la phthisiologie actuelle. On affirme souvent que les bacilles catalase-négatifs et avirulents pour le cobaye sont mieux tolérés par leur porteur que les bacilles isoniazido-sensibles virulents pour le cobaye. Cette affirmation est peut-être exacte, mais elle repose sur des impressions plus que sur des statistiques.

Le porteur de ces bacilles dits avirulents est-il du moins inoffensif pour son entourage ? L'enfant qui est auprès de lui réagira-t-il à la contamination comme le cobaye, c'est-à-dire par une tuberculose localisée et spontanément régressive ?

Remarquons tout d'abord que vis-à-vis des bacilles isoniazido-sensibles et de virulence normale, l'enfant comme l'adulte réagit le plus souvent par une lésion locale, inapparente ou régressive. Les raisons pour lesquelles la contamination entraîne dans certains cas la tuberculose-maladie sont très mal connues, mis à part le rôle joué par la dose infectante et par la répétition des contacts. On peut donc prévoir que seules des statistiques extrêmement étendues permettraient de savoir si la tuberculose-maladie provoquée par les bacilles isoniazido-résistants est, à conditions de contamination égales, aussi fréquente ou moins fréquente que la tuberculose-maladie provoquée par les bacilles normaux, et si elle suppose un terrain particulièrement sensible.

À défaut de pareilles statistiques, on peut néanmoins rappeler les deux notions suivantes :

1° La fréquence des souches isoniazido-résistantes chez les malades non traités augmente chaque année, ce qui implique que le nombre de contaminations par bacilles isoniazido-résistants augmente aussi. À l'hôpital Albert-Calmette, à Lille, cette fréquence a passé de 2,7 p. 100 en 1956 à 5,7 p. 100 en 1957 [14].

2° Si l'impression prévaut qu'il s'agit le plus souvent de souches faiblement isoniazido-résistantes, catalase-positives et virulentes pour le cobaye (ce qui en explique le rôle contaminateur mais n'en rend pas plus aisée la chimiothérapie par l'isoniazide), on connaît cependant plusieurs cas récents et très rigoureusement observés de méningite grave due à une contamination par des bacilles fortement isoniazido-résistants, catalase-négatifs et avirulents pour le cobaye (Viallier [15], Degli Esposti [4]).

Même si ces cas doivent rester rares, leur existence prouve que le tuberculeux chronique porteur de bacilles isoniazido-résistants doit être isolé et considéré comme dangereux, quel que soit le pouvoir pathogène de ses bacilles pour le cobaye.

### III. — PEUT-ON EXPLIQUER LE COMPORTEMENT DIFFÉRENT DES BACILLES ISONIAZIDO-RÉSISTANTS CATALASE-NÉGATIFS CHEZ LE COBAYE ET CHEZ L'HOMME ?

Dans la caverne pulmonaire de l'homme, les bacilles isoniazido-résistants et catalase-négatifs se multiplient abondamment, alors que dans les lésions généralisées du cobaye, ils meurent après une première phase de multiplication. S'agit-il d'un mode réactionnel spécifique des deux hôtes en question, et, contrairement aux bacilles de virulence normale, les bacilles catalase-négatifs seraient-ils plus virulents pour l'homme que pour le cobaye ?

Il ne le semble pas et il est plus simple de proposer une autre explication [12] : chez le cobaye les bacilles de pouvoir pathogène atténué sont déposés dans un tissu sain. Chez l'homme, ce ne sont généralement pas ces bacilles qui provoquent la formation de la caverne. Ils se multiplient, chez l'homme traité par l'isoniazide, dans une cavité déjà organisée et provoquée par des bacilles de virulence normale. Tout se passe comme si on inoculait ces bacilles atténués dans un tissu caséeux, qui semble constituer un excellent milieu de culture, et apporter en particulier, comme l'a fait remarquer Middlebrook, de la catalase en abondance, due à la destruction des leucocytes.

Une observation fortuite nous a semblé confirmer cette hypothèse : chez trois de nos cobayes, inoculés par voie sous-cutanée avec une souche de bacilles fortement isoniazido-résistants et catalase-négatifs, des cavités pulmonaires se sont constituées tardivement, sans d'ailleurs que nous en connaissions la cause occasionnelle [12]. Or, dans ces cavités, les bacilles pullulaient comme dans une caverne pulmonaire humaine, alors que toutes les lésions de la période de généralisation étaient en voie de guérison. Les bacilles cultivés à partir de ces cavités étaient isoniazido-résistants, catalase-négatifs et leur pouvoir pathogène pour le cobaye était aussi fortement atténué que celui de la souche inoculée. De même Zaidy [16] et ses collaborateurs ont provoqué des cavités pulmonaires chez le cobaye silicotique par l'inoculation de bacilles isoniazido-résistants.

Dans ces deux cas, l'espèce animale n'était pas en cause, mais seulement la qualité du tissu infecté. Chez le cobaye, dans un tissu sain ou dans le tissu épithélioïde et giganto-cellulaire caractéristique des lésions de granulie évoquées plus haut, les bacilles à pouvoir pathogène atténué prolifèrent brièvement, puis meurent.

Au contraire, au sein d'un tissu caséeux, ils se multiplient abondamment. Cela est vrai dans le tissu pulmonaire et les cavernes, mais non pour les abcès des ganglions inguinaux ou trachéo-bronchiques. Ceux-ci finissent presque toujours par guérir totale-

ment. Il semble donc que la multiplication de bacilles atténués exige non seulement du tissu nécrotique, mais aussi une aération suffisante.

L'explication que nous venons de proposer ne rend cependant pas compte de tous les faits observés. Chez le cobaye, nous avons observé parfois des abcès fermés (hépatiques ou testiculaires) où les bacilles étaient très abondants, de même qu'il existe chez l'homme des tuberculomes pulmonaires bien enkystés où les bacilles catalase-négatifs sont très nombreux.

Mais surtout l'explication proposée ne rend pas compte du fait que chez certains enfants contaminés par une souche catalase-négative, les bacilles ont été déposés dans du tissu pulmonaire sain et ont cependant été capables d'y provoquer un complexe primaire ganglio-pulmonaire, d'essaimer jusque dans les méninges et d'y provoquer une méningite authentique [4, 15].

Pour expliquer ces cas, peut-être faut-il faire jouer un rôle au terrain individuel des sujets contaminés et à la susceptibilité particulière des méninges aux bacilles tuberculeux ? Peut-être aussi les bacilles ont-ils profité d'une modification occasionnelle du terrain pulmonaire local. On connaît maintenant l'existence de bacilles acido-résistants dits « atypiques », faiblement isoniazido-résistants mais catalase-positifs, généralement chromogènes, qui sont responsables de lésions pulmonaires chroniques de l'homme, en tout semblables à des lésions tuberculeuses, et qui cependant ne tuent pas le cobaye. Il est possible que ces bacilles atypiques ne puissent devenir pathogènes pour l'homme qu'à la faveur de quelque anomalie locale (broncho-pneumonie, silicose). On voit que le cas des bacilles isoniazido-résistants catalase-négatifs n'est pas unique.

Y a-t-il un rapport de cause à effet entre la perte de pouvoir catalasique et peroxydasique par les bacilles isoniazido-résistants et l'atténuation de leur pouvoir pathogène ?

Cette question sera examinée dans le rapport de B. Kreis.

#### CONCLUSIONS.

L'action de l'isoniazide sur les populations normales de bacilles de Koch a permis de sélectionner un type de mutant jusqu'alors inconnu : le bacille tuberculeux isoniazido-résistant, catalase-négatif et dont le pouvoir pathogène pour le cobaye est fortement atténué. L'étude de ces mutants permet d'étudier sous un angle nouveau le problème du pouvoir pathogène et de la virulence du bacille de Koch.

Mais si ces mutants ont un faible pouvoir pathogène pour le cobaye, il ne s'ensuit pas qu'ils soient inoffensifs pour le tuberculeux, chez lequel ils se sont développés à la faveur d'un traite-



ment par l'isoniazide. Ils peuvent même, dans certaines conditions encore indéterminées, être dangereux pour l'entourage du malade qui les élimine, souvent en grandes quantités.

La notion de ce pouvoir pathogène diminué pour le cobaye ne doit donc pas faire négliger les règles classiques de la chimiothérapie et de la prophylaxie antituberculeuses : chimiothérapie mixte empêchant le développement de mutants résistants, prophylaxie fondée sur l'isolement des malades et la vaccination des individus non tuberculisés. Cette règle est d'autant plus justifiée que, dans la pratique, les mutants isoniazido-résistants de pouvoir pathogène diminué sont souvent mélangés, dans une même expectoration, à des mutants isoniazido-résistants pleinement virulents ou à des bacilles isoniazido-sensibles également virulents.

## BIBLIOGRAPHIE

- [1] BERNARD (E.), KREIS (B.) et LE JOUBIOUX (E.). *Rev. Tub.*, 1955, **19**, 1185.
- [1 bis] BERNARD (E.), KREIS (B.) et LE JOUBIOUX (E.). *Rev. Tub.*, 1957, **21**, 429.
- [2] CANETTI (G.) et GROSSET (J.). *Rev. Tub.*, 1958, **22**, 778.
- [3] COLETSOS (P. J.), ORJOT (E.) et REGEL (N. DE). *Rev. Tub.*, 1957, **21**, 952.
- [4] DEGLI ESPOSTI (A.) et MARTONI (L.). *Rev. Tub.*, 1958, **22**, 223.
- [5] GERNEZ-RIEUX (Ch.), TACQUET (A.), VOISIN (C.) et FABRE (M.). *Rev. Tub.*, 1955, **19**, 1.
- [6] KREIS (B.). *Progr. Explor. Tub.*, 1958, **9**, 178, S. Karger, Bâle et New-York.
- [7] LIBERMANN (C.). *Ann. Inst. Pasteur*, 1958, **94**, 310 et 1958, **95**, 432.
- [8] LIBERMANN (C.), RIST (N.) et LEVADITI (J.-C.). *Proc. XIV<sup>th</sup> int. Tub. Conf., New Dehli*, 1957, 261.
- [9] MANDEL (W.) COHN (M. L.), RUSSEL (W. F.) et MIDDLEBROOK (G.). *Am. J. med. Sci.*, 1957, **233**, 66.
- [10] MEISSNER (G.). *Progr. Expl. Tub.*, 1956, **7**, 52, S. Karger, Bâle et New-York.
- [11] MIDDLEBROOK (G.). *Bull. Un. int. Tub.*, 1956, **26**, 185.
- [12] RIST (N.). *Am. Rev. Tub.*, 1956, **74**, 75.
- [13] RIST (N.), LIBERMANN (C.), GRUMBACH (F.) et LEVADITI (J.-C.). *Rev. Tub.*, 1955, **19**, 659.
- [14] TACQUET (A.), VOISIN (C.), FOURNIER (E.) et SERGENT (Y. H.). *Rev. Tub.*, 1958, **22**, 506.
- [15] VIALIER (J.). *Bull. Un. int. Tuberc.*, 1957, **27**, 266.
- [16] ZAIDI (S. H.), HARRISON (C. V.), KING (E. G.) et MITCHISON (D. A.). *Brit. J. exp. Path.*, 1955, **36**, 345 et 553.

## LES MODIFICATIONS ENZYMATIQUES DES BACILLES ISONIAZIDO-RÉSISTANTS

par B. KREIS.

(Clinique de Pneumophthisiologie, Hôpital Laennec, Paris)

Par définition, tout germe résistant présente un métabolisme différent de son homologue sensible. Il est en effet capable de se reproduire en présence d'un produit qui se montre toxique pour ce germe sensible. Dans cette modification du métabolisme interviennent toujours plusieurs réactions enzymatiques.

Les variations enzymatiques ne concourent pas toutes à assurer la résistance. Certaines ont pour effet de modifier les conditions de culture *in vitro* des germes résistants; d'autres peuvent influencer leur reproduction *in vivo*, c'est-à-dire leur virulence. L'existence de réactions enzymatiques particulières permet parfois aussi d'identifier les germes résistants.

Le cas des bacilles tuberculeux isoniazido-résistants est particulièrement bien étudié et peut servir d'exemple. Pour simplifier cet exposé, nous nous bornerons aux modifications qu'affectent chez eux les *enzymes respiratoires*. Ces bacilles résistants sont pratiquement dépourvus de peroxydase et ce déficit pourrait expliquer la résistance. Certains de ces bacilles résistants sont également dépourvus de catalase. L'étude enzymatique révèle ainsi l'existence de plusieurs catégories de bacilles résistants, différentes de celles qu'on établit par la mesure du degré de résistance. Les bacilles dépourvus de catalase ont un comportement particulier chez l'animal comme chez l'homme, notion qui présente un grand intérêt épidémiologique et clinique. Enfin les modifications des enzymes respiratoires peuvent permettre d'établir l'origine de bacilles acido-résistants.

### LES MODIFICATIONS ENZYMATIQUES PEUVENT EXPLIQUER LA RÉSISTANCE.

De nombreuses théories édifiées pour expliquer le mode d'action de l'isoniazide font intervenir une action enzymatique. On s'est intéressé aux coenzymes 1 et 2, aux systèmes à base de pyridoxal-phosphate, aux diamino-oxydases, à la formation de

chélates métalliques qui se fixent sur les enzymes. Mais on a surtout incriminé la catalase et la peroxydase.

Le déficit en *catalase* ne semble toutefois pas pouvoir rendre compte de la résistance.

En effet, un grand nombre de souches résistantes gardent une réaction catalasique positive. Sur 569 souches résistantes testées par la simple exposition des colonies à l'eau oxygénée nous avons trouvé 301 souches capables de libérer des bulles d'oxygène. Certes, cet argument n'est pas décisif. Dans cette recherche il s'agissait de souches fraîchement isolées chez des tuberculeux et qui pouvaient contenir, mêlés aux bacilles résistants, assez de bacilles sensibles riches en catalase pour décomposer l'eau oxygénée. Mais cette objection perd sa valeur lorsqu'on étudie des colonies qui sont apparues sur un milieu contenant de l'isoniazide. Or, dans ces conditions, Meissner et Bönicke trouvent 1 283 souches porteuses de catalase sur 1 866 souches résistantes. La résistance ne peut donc s'expliquer dans ce cas par l'absence d'activité catalasique.

Une autre objection importante à cette théorie est que, dans les souches porteuses de catalase, le taux d'activité catalasique n'est pas proportionnel au degré de résistance. Les taux de 40 à 90 p. 100 de catalase se rencontrent avec des degrés variés de résistance ; l'absence de catalase peut être complète pour des souches résistantes à 1  $\mu$ g comme pour des souches résistantes à 20  $\mu$ g.

Au contraire, il existe une relation étroite entre la *peroxydase* et la résistance. Déjà signalée par Andrejew, Gernez-Rieux et Tacquet, cette relation a été établie par Tirunarayan et Vischer. Nous avons pu confirmer les résultats de ces derniers auteurs en utilisant leur technique qualitative au catéchol. Sur 146 souches sensibles, la réaction a été positive cent quarante-trois fois ; sur 137 souches résistantes à des degrés divers, la réaction a été négative cent vingt-cinq fois et positive douze fois. Nous avons alors contrôlé ces 12 derniers cas. Il est apparu que trois fois c'est à tort que la peroxydase avait été considérée comme présente. Dans 7 autres cas c'est la résistance qui avait été affirmée à tort ; ou du moins elle existait bien, mais elle ne portait que sur un petit nombre de colonies, le reste de la population bacillaire restant sensible et, de ce fait, porteur de peroxydase. Enfin trois souches avaient une résistance homogène à 0,1  $\mu$ g et une réaction peroxydasique faiblement positive.

Ainsi la presque totalité des souches résistantes, et en tout cas toutes les souches résistantes à 1  $\mu$ g ou plus, ne se colorent pas par le catéchol. S'ensuit-il que l'absence de peroxydase explique la résistance et ses divers degrés ? Cela paraît vraisemblable s'il est exact, comme le veulent Hedgecock et Faucher, que la résis-

tance est une fonction logarithmique de l'activité peroxydasique. La réaction qualitative que nous avons utilisée ne nous permet pas d'en juger, puisqu'elle montre une absence de peroxydase, quel que soit le taux de résistance.

Quant à expliquer le mécanisme par lequel l'absence de peroxydase entraîne la résistance, il faut admettre que l'isoniazide n'agit sur le bacille tuberculeux qu'après une oxydation intracellulaire par la peroxydase.

Signalons encore que la peroxydase est absente dans les souches résistantes, qu'elles contiennent ou non de la catalase. Le taux de catalase des souches résistantes catalase positives n'influence pas l'intensité de la réaction peroxydasique.

#### LES MODIFICATIONS ENZYMATIQUES PEUVENT EXPLIQUER LES PARTICULARITÉS DU POUVOIR PATHOGÈNE DES SOUCHES RÉSISTANTES.

C'est ici la catalase qui est incriminée. Cependant son rôle a été fortement discuté. Nous pensons que les divergences tiennent à l'insuffisance des techniques utilisées pour doser la catalase et pour estimer le pouvoir pathogène.

En effet, nous avons déterminé sur 177 souches la présence de catalase par la décomposition de l'eau oxygénée à l'œil nu et le pouvoir pathogène par le degré des lésions du cobaye au quatre-vingt-dixième jour. Dans ces conditions 45 souches sensibles à 0,1  $\mu$ g d'isoniazide avaient toutes une réaction catalasique positive et ont déterminé une tuberculose généralisée. Sur 132 souches résistantes, 91 avaient une réaction catalasique négative : 83 d'entre elles avaient provoqué des lésions purement locales et 8 une tuberculose étendue. Des 41 souches résistantes ayant une réaction catalasique positive, 28 ont causé des lésions généralisées et 13 une atteinte seulement locale.

Ces chiffres permettent de conclure que la majorité des souches sans catalase sont peu pathogènes ; mais il en est de même d'un tiers des souches porteuses de catalase. D'autre part, 8 souches dépourvues apparemment de catalase semblent avoir déterminé des tuberculoses étendues ou mortelles. Les rapports du pouvoir pathogène et de la catalase apparaissent ici contingents.

Mais ces conclusions reposent sur des techniques insuffisantes. Pour serrer de près le problème il faut doser quantitativement la catalase. Il faut estimer non pas l'étendue des lésions, mais le type progressif ou régressif de la maladie, le caractère régressif étant, plus que l'atténuation des lésions, la véritable particularité du pouvoir pathogène étudié. Il faut enfin éliminer les sources mixtes où des bacilles sensibles, des bacilles résistants porteurs de catalase se mêlent aux bacilles catalase négatifs. Cela nécessite



l'inoculation de chaque souche à trois cobayes au moins, dont deux sacrifiés très tardivement (sixième et douzième mois), et la vérification de la résistance et de l'activité catalasique des bacilles récupérés à l'autopsie. Ce ne sont pas seulement les caractères des bacilles inoculés qui importent ; il faut que ces caractères se retrouvent inchangés dans les lésions provoquées par ces bacilles.

Dans ces conditions la corrélation est presque parfaite entre la présence de catalase à un taux normal et la tuberculose progressive ; entre l'absence de catalase (ou son taux faible) et la tuberculose régressive (que nous avons notée quarante-sept fois sur 48). Seuls certains taux intermédiaires de catalase restent de signification variable (4 tuberculoses progressives contre 5 tuberculoses régressives).

Nous ne pensons nullement d'ailleurs que le pouvoir pathogène soit d'autant plus grand que le taux de catalase est plus élevé : on sait au contraire que les mycobactéries saprophytes, le BCG, les bacilles avirulents sont riches en catalase. Quoi qu'on ait dit, l'importance des lésions provoquées par les bacilles tuberculeux normaux est sans rapport avec le taux de catalase. Il faut un minimum de catalase à un bacille aérobie pour pouvoir survivre et se multiplier dans les tissus ; mais la nature de son activité pathogène dépend de tout autres facteurs que la catalase. Il faut dissocier, dans le pouvoir pathogène, ce qui dépend du degré de multiplication des bacilles et ce qui tient à l'action toxique locale des corps bactériens. Celle-ci est indépendante de la catalase ; elle varie selon les souches ; elle justifie les différences de degré de lésions produites par des souches toutes dépourvues de catalase ; elle explique que ces souches inoculées, non sous la peau, mais dans un organe vital (cerveau, poumon), puissent tuer l'animal. Mais ces souches ne possèdent pas le pouvoir de proliférer indéfiniment en créant progressivement des lésions multiples à distance qui est l'apanage des souches munies de catalase.

Non seulement l'absence de catalase permet de reconnaître les souches dont le pouvoir pathogène est modifié, mais elle permet d'expliquer les particularités de ce pouvoir pathogène :

a) *Le caractère régressif de la tuberculose* s'explique parce que le métabolisme normal des tissus vivants libère de l'eau oxygénée  $H_2O_2$ . Toutes les cellules, tous les germes aérobies sont protégés contre cet  $H_2O_2$  par une catalase endocellulaire. Au contraire, les bacilles isoniazido-résistants en sont dépourvus. Aussi vont-ils bientôt être tués. L'action toxique de  $H_2O_2$  sur ces bacilles est aisée à mettre en évidence expérimentalement et l'on peut régler l'expérience de façon à tuer tous les bacilles dépourvus de catalase, alors que bacilles sensibles et bacilles isoniazido-

résistants porteurs de catalase survivent sans dommage à l'exposition à  $H_2O_2$ .

b) *La persistance de ces bacilles dans les foyers caséeux* se comprend si l'on admet que le métabolisme réduit du tissu caséeux ne donne pas lieu à la formation de  $H_2O_2$ . On rencontre de plus, dans le tissu nécrotique, de la catalase et d'autres produits destructeurs de  $H_2O_2$ , provenant de la lyse tissulaire. Les bacilles sans catalase ne sont donc pas exposés à  $H_2O_2$  dans les foyers caséeux et c'est pourquoi ils y survivent longtemps, en particulier dans les ganglions.

c) *La multiplication de ces bacilles dans les cavernes* a la même origine. Dans les cavernes, la lyse cellulaire et leucocytaire se poursuit sans arrêt; les destructeurs d'eau oxygénée sont donc abondants. Grâce à cet apport extérieur, et malgré leur défaut en catalase endogène, les bacilles résistants peuvent se multiplier sans entrave.

Ainsi, l'absence de catalase peut expliquer que des bacilles injectés sous la peau se disséminent dans l'organisme, mais disparaissent bientôt des tissus. Dans les lésions caséuses ils survivent longtemps; dans les cavernes ils pullulent comme les bacilles normaux, d'où leur nocivité dans les tuberculoses humaines.

L'absence de catalase est-elle le seul facteur d'atténuation du pouvoir pathogène des bacilles résistants? Ce n'est pas certain. Des bacilles résistants catalase positifs peuvent ne provoquer que des tuberculoses discrètes. La perte d'autres réactions enzymatiques peut gêner la multiplication *in vivo* de ces bacilles. Mais les tuberculoses ainsi provoquées restent cependant progressives et finissent à la longue par tuer le cobaye. Elles se distinguent ainsi de l'affection régressive provoquée par les bacilles dépourvus de catalase.

Le déficit en peroxydase n'intervient pas, au moins à lui seul, dans l'atténuation du pouvoir pathogène. Nous avons constaté que des bacilles résistants tout à fait dépourvus de peroxydase provoquaient chez le cobaye des tuberculoses rapidement mortelles.

#### LES DÉFICITS ENZYMATIQUES PEUVENT ÊTRE UTILISÉS POUR L'IDENTIFICATION DES BACILLES ISONIAZIDO-RÉSISTANTS.

Les modifications des enzymes respiratoires des bacilles tuberculeux isoniazido-résistants apportent de précieux renseignements, lorsqu'il s'agit de classer des souches de bacilles acido-résistants, isoniazido-résistants et de faible virulence expérimentale.

C'est ainsi que si l'on constate la perte de l'activité catalasique,

il s'agit sûrement de bacilles d'origine humaine ou bovine. Les autres mycobactéries isoniazido-résistantes conservent au contraire leur activité catalasique.

Si l'activité catalasique est conservée il peut s'agir soit de bacilles humains ou bovins, soit de mycobactéries d'autres types. Mais en élevant la résistance des souches à étudier au-delà de 100 µg, par passages successifs en milieu à l'isoniazide, on obtient pratiquement toujours la disparition de la catalase s'il s'agit de bacilles humains ou bovins (Bönicke), alors que les autres mycobactéries conservent toujours une activité catalasique.

La disparition de la peroxydase permet de même d'opposer les bacilles humains, bovins et certaines souches des bacilles humains dits « atypiques » à toutes les autres bactéries résistantes à l'isoniazide.

Si l'on a affaire à des bacilles acido-résistants sensibles à l'isoniazide et de faible virulence, ils contiennent de la peroxydase s'il s'agit de BCG ou de bacilles humains avirulents. Quand on les rend résistants à l'isoniazide ils perdent cette peroxydase.

Signalons que l'activité déshydrasique oppose aussi les bacilles humains et bovins, résistants ou non à l'isoniazide, aux autres mycobactéries : celles-ci réduisent vite le bleu de méthylène, ceux-là le réduisent lentement, ou très lentement (c'est le cas du BCG).

Non seulement la perte de l'activité catalasique affirme l'origine humaine ou bovine de souches isoniazido-résistantes, mais elle peut permettre de reconnaître si ces souches sont pures. On sait, en effet, que des bacilles résistants catalase positifs ou des bacilles sensibles peuvent se trouver mêlés aux bacilles catalase négatifs. Lorsque les bacilles catalase positifs sont assez nombreux, la colonie manifeste une certaine activité catalasique. Mais il n'en est plus ainsi lorsque ces bacilles sont rares et ils sont alors très difficiles à déceler. On se contente, habituellement, pour les reconnaître, de répartir également la souche sur des tubes de milieux sans isoniazide et des milieux contenant de l'isoniazide et de compter les colonies qui poussent. Si l'on trouve le même nombre de colonies sur les deux séries de tubes, c'est que tous les bacilles ensemencés sur le milieu sans isoniazide ont poussé aussi sur le milieu avec isoniazide. Tous les bacilles sont donc résistants.

Cette méthode est en réalité très infidèle. D'une part le nombre de colonies qu'on peut compter sur un tube est forcément très limité ; il ne dépasse guère 200 dans les conditions habituelles ; s'il y a moins d'un bacille sensible sur 200 il est donc impossible de le savoir. Mais ce chiffre est théorique. En effet, on ne peut tenir compte de faibles variations dans le nombre des colonies comptées, car le hasard suffit à les provoquer : qu'on trouve

55 colonies dans une série et 50 dans l'autre, on doit considérer ces chiffres comme équivalents. La méthode laisse donc facilement ignorer 10 p. 100 de bacilles sensibles mêlés à des bacilles résistants. De plus, elle est incapable de séparer les bacilles résistants catalase positifs des bacilles catalase négatifs qui constituent une variété très différente au point de vue du pouvoir pathogène.

La méthode la plus valable pour reconnaître la pureté d'une souche de bacilles catalase négatifs consiste à inoculer ces bacilles au cobaye. On surveille les animaux; s'ils ne meurent pas, on ne les sacrifie pas avant huit mois ou un an. Le cobaye fait le tri des bacilles virulents et non virulents. Ces derniers disparaissent et seuls les premiers subsistent et se multiplient au bout d'un certain temps. Il suffit de mesurer la sensibilité et l'activité catalasique des bacilles récupérés à l'autopsie pour savoir si la souche inoculée était initialement pure ou non.

Mais cette méthode peut demander un an pour donner une réponse. Il est beaucoup plus simple d'exposer la souche à l'eau oxygénée. En réglant la concentration de l'eau oxygénée et la durée de l'épreuve, on arrive à tuer tous les bacilles catalase négatifs: les survivants sont catalase positifs (dans notre expérimentation la concentration de  $H_2O_2$  était de 0,03 p. 100 et la durée du contact était de trois heures). On fait ainsi « sortir » rapidement d'une population bacillaire à réaction catalasique négative ou faible, les éléments porteurs de catalase qui peuvent s'y trouver mêlés en petit nombre. Or, ces derniers éléments, même peu nombreux, peuvent changer complètement le pouvoir pathogène de la souche. L'exposition à  $H_2O_2$  évitera d'attribuer faussement à des bacilles dépourvus de catalase ce qui revient aux autres variétés de bacilles.

Nous ne prétendons pas, dans cet exposé, avoir mis en valeur toutes les modifications enzymatiques des bacilles isoniazido-résistants. Nous en avons fait ailleurs une étude plus complète [1]. Nous espérons seulement, par quelques exemples, avoir montré l'intérêt de leur étude non seulement au point de vue de la pathologie générale, mais aussi des applications pratiques quotidiennes.

#### BIBLIOGRAPHIE

- [1] KREIS (B.). *Adv. Tub. Res.*, 1958, 9, 178-247.
-



## DISCUSSION

---

### LE DEGRÉ DE LA RÉSISTANCE MICROBIENNE ET SA SIGNIFICATION CLINIQUE (EN PARTICULIER EN TUBERCULOSE)

par B. KREIS.

(Clinique de Pneumophtisiologie, Hôpital Laennec, Paris)

Que doit-on considérer comme le *seuil clinique* de la résistance microbienne, ou, si l'on préfère, comme le *taux cliniquement significatif* de la résistance ? A mon avis, ce taux n'est pas distinct du seuil bactériologique. Il n'y a pas un seuil clinique et un seuil bactériologique de la résistance. Toute souche bactériologiquement résistante est résistante en clinique.

En effet, l'apparition de la résistance est due à la prolifération, au milieu des germes sensibles, des variants résistants initialement présents dans la souche. Or, cette prolifération n'est possible que lorsque le degré de résistance de ces variants préexistants est supérieur au taux d'antimicrobien avec lequel ils se trouvent en contact. S'il apparaît des souches résistantes à un faible degré c'est que l'antimicrobien n'a pu empêcher de pousser, même, les variants faiblement résistants. Il n'y a pas à se féliciter de ce que la résistance d'un germe soit faible, en supposant qu'il doit exister dans l'organisme un taux d'antimicrobien suffisant pour l'inhiber : si ce taux existait, la résistance n'aurait pu apparaître. Le plus faible degré de la résistance est la mesure du plus haut étiage du médicament dans les lésions.

Ce qui donne une apparence paradoxale à cette déduction pourtant évidente, ce sont les expériences où l'on inocule des germes d'une résistance donnée à un animal qu'on traite ensuite par un antimicrobien. Les bacilles tuberculeux sont sensibles à 1  $\mu$ g de streptomycine. Inoculons par exemple un cobaye avec des bacilles résistant à 2  $\mu$ g de streptomycine et traitons l'animal par cet antibiotique, de façon à amener une concentration de 10  $\mu$ g de streptomycine dans la lésion. Dans ce cas, les bacilles

seront inhibés et nous pourrions guérir le cobaye. Mais si nous avions inoculé des bacilles résistant à 20  $\mu\text{g}$ , le traitement resterait sans effet. On a ainsi l'impression que le traitement peut être actif sur des bacilles résistants, au moins tant qu'un certain degré de résistance n'est pas atteint et qu'il existe un seuil clinique de la résistance.

En réalité, cette expérience ne correspond qu'à un cas très particulier : celui des infections dues à des germes d'emblée résistants. Mais dans l'immense majorité des cas, il n'en est pas ainsi en clinique. Chez notre cobaye, les bacilles ont leur résistance acquise, dès le départ de l'expérience. Cette résistance est sans rapport aucun avec le taux de streptomycine réalisé par le traitement. Les bacilles sont résistants à 2  $\mu\text{g}$  ; le traitement peut amener un taux de 10  $\mu\text{g}$  au contact des bacilles. Chez le tuberculeux pulmonaire rien de semblable : les bacilles étaient sensibles au départ. S'ils sont devenus résistants à 2  $\mu\text{g}$ , c'est que le traitement a inhibé les bacilles sensibles, mais a été impuissant à empêcher la multiplication des quelques variants résistants à 2  $\mu\text{g}$  qui préexistent dans la souche. On ne peut donc *a fortiori* rien espérer de la continuation du traitement, alors que ces bacilles résistants à 2  $\mu\text{g}$  sont devenus nombreux. *L'apparition de la résistance marque la faillite du traitement quel que soit le degré de résistance.*

Ce point établi, nous n'aurons aucun mal à faire admettre que *la résistance n'entraîne pas l'inactivité du traitement*. Tout au contraire, l'apparition de la résistance est le *résultat* d'un manque d'efficacité du traitement.

Quant au degré de la résistance, il traduit seulement le niveau de la concentration de l'antimicrobien. Si la souche ne comporte pas de germes dont la résistance soit inférieure à 20  $\mu\text{g}$ , c'est que les germes sensibles et les germes résistants à 2, 5, 10  $\mu\text{g}$  ont été inhibés. La concentration de l'antimicrobien au contact des germes a donc atteint au moins 10  $\mu\text{g}$ . Mais si la souche contient aussi des germes résistants à 2  $\mu\text{g}$  c'est que la concentration est restée inférieure à 2  $\mu\text{g}$ , au moins dans un des foyers microbiens : ce n'est donc pas du degré supérieur de la résistance d'une souche qu'on doit tenir compte, mais bien du degré le plus bas.

Avec bien des antimicrobiens il peut arriver que la concentration du produit ne soit pas suffisante à empêcher la multiplication même des germes sensibles. Cela peut tenir à une élimination ou une destruction trop rapide du médicament ou à une lésion qui se montre peu perméable. Dans ces cas, où le traitement est totalement inactif, la résistance n'a aucune raison d'apparaître. C'est là l'explication du « paradoxe » des bacilles qui restent sensibles et continuent à se multiplier malgré des traitements prolongés pendant des mois. Mais ici la preuve de l'inefficacité n'est pas

signée par la mesure de la résistance ; pour apporter cette preuve, il faut pouvoir établir que les bacilles continuent effectivement à se multiplier dans l'organisme. La constatation de la résistance au contraire n'intervient que quand le traitement montre une certaine efficacité ; il faut qu'il inhibe les bacilles sensibles pour que les résistants arrivent à se développer seuls. En même temps que la résistance mesure l'insuffisance du traitement, puisqu'il n'empêche pas la multiplication des bacilles résistants, elle affirme l'efficacité de ce traitement sur les bacilles sensibles.

Les idées que nous venons d'exposer peuvent paraître choquantes à des cliniciens, qui ont tous guéri des infections à germes modérément résistants. Ces guérisons sont réelles et l'explication en est simple : en modifiant les conditions du traitement, on peut élever le taux d'un antimicrobien de façon à le rendre actif : l'augmentation des doses ou l'addition de PAS à l'isoniazide suffit à augmenter la concentration de l'isoniazide ; une répartition différente des injections peut élever la concentration de streptomycine ; surtout l'apport d'un médicament nouveau fait disparaître les germes résistants, alors que le premier produit reste toujours actif sur les germes sensibles. Mais si l'on ne change rien au traitement qui a laissé apparaître des germes résistants, quel que soit le taux de résistance, on ne peut plus espérer qu'il apportera la guérison. Si celle-ci survient, elle ne peut être que le fait d'une évolution spontanée.

Avec le professeur Etienne Bernard, nous avons récemment apporté la confirmation clinique de ces déductions, en ce qui concerne les traitements de la tuberculose pulmonaire [1].

*En résumé*, le taux de la résistance clinique ne se distingue pas de celui de la résistance bactériologique. La résistance n'entraîne pas l'inactivité du traitement, mais elle en est la conséquence. La sensibilité des germes, qui se multiplient sous traitement, a la même signification clinique que la résistance.

#### BIBLIOGRAPHIE

- [1] BERNARD (Et.) et KREIS (B.). *Bull. Union Int. Tub.*, 1957, **27**, 242-244.

# **LE POUVOIR PATHOGÈNE DES MYCOBACTÉRIES AVIAIRES RÉSISTANTES A DE FORTES CONCENTRATIONS D'ISONIAZIDE**

par A. TACQUET.

(*Institut Pasteur, Lille*)

L'objet de cette étude a été de comparer le pouvoir pathogène de bacilles tuberculeux aviaires « sauvages » et des souches homologues ayant acquis, par repiquages successifs, une résistance très élevée à l'isoniazide. Voici le résumé de cette expérimentation, réalisée à l'Institut Pasteur de Lille avec V. Macquet, à la fois chez la poule et chez le lapin.

## **TUBERCULOSE EXPÉRIMENTALE DE LA POULE.**

Les animaux ont été divisés en deux lots.

a) Le premier lot a été inoculé par voie intraveineuse avec 0,01 mg (poids humide) d'une souche « sauvage » « Aviaire B », isolée d'une volaille et entretenue depuis trois ans au laboratoire sur milieu de Löwenstein. Cette souche était naturellement résistante à des doses élevées d'INH : 100 µg d'INH par millilitre, et partiellement résistante à 200 µg sur milieu liquide de Dubos.

Deux autres animaux du même lot ont été inoculés, également par voie veineuse, avec 1 mg (poids humide) d'une souche sauvage « Canard », naturellement résistante à 200 µg d'INH par millilitre et partiellement résistante à 400 µg sur milieu liquide de Dubos.

b) Le second lot a reçu respectivement 0,01 mg de la souche « Aviaire B » rendue résistante à 1 000 µg d'INH par millilitre et 1 mg de la souche « Canard » ayant acquis une résistance à 3 000 µg d'INH par millilitre. Des numérations de germes avaient permis de s'assurer que le nombre des bacilles inoculés dans chacun des lots d'animaux était sensiblement comparable.

Le tableau I résume cette expérience et ses résultats. Les souches aviaires « sauvages » déterminent chez la poule une tuberculose généralisée, mortelle dans des délais variables (quarante à quatre-vingt-quatorze jours) selon la virulence des souches inoculées. Leurs mutants résistants à des doses élevées d'isoniazide sont incapables de créer une tuberculose progressive et d'entraîner la mort des animaux. Le sacrifice au quatre-vingt-quatorzième



jour ne montre aucune lésion macroscopique ou microscopique de tuberculose et la culture des différents organes ne permet plus l'isolement des mycobactéries aviaires.

TABLEAU I. — Infection expérimentale de la poule par les bacilles aviaires « sauvages » ou ayant acquis une forte résistance à l'INH.

POULES N°	SOUCHES	DOSES voie intra-veineuse	DELAIS DE SURVIE LÉSIONS	CULTURES DES ORGANES
1	"Aviaire B" naturellement résistante à 100 $\mu$ g d'INH " par ml (partiellement à 200 $\mu$ g)	0, 01 mg	Mort au 40e jour  TUBERCULOSE GENERALISEE	Poumons $\infty$ Rate $\infty$ Foie $\infty$ Reins $\infty$
2	"Aviaire B" résistante à 1000 $\mu$ g d'INH par ml	0,01 mg	Sacrifice au 19e mois <u>AUCUNE LÉSION</u>	Poumons 0 Rate 0 Foie 0
3	"Canard" naturellement résistante à 200 $\mu$ g d'INH par ml (partiellement à 400 $\mu$ g)	1 mg	Mort au 80e jour  TUBERCULOSE GENERALISEE	Poumons $\infty$ Rate $\infty$ Foie $\infty$
4	"Canard" naturellement résistante à 200 $\mu$ g d'INH par ml (partiellement à 400 $\mu$ g)	1 mg	Mort au 94e jour  TUBERCULOSE GENERALISEE	Poumons $\infty$ Rate $\infty$ Foie $\infty$
5	"Canard" résistante à 3000 $\mu$ g d'INH par ml	1 mg	Sacrifice au 94e jour <u>AUCUNE LÉSION</u>	Poumons 0 Rate 0 Foie 0
6 7 8	"Canard" résistante à 3000 $\mu$ g d'INH par ml	1 mg	Survie au 140e jour <u>AUCUNE PERTE de POIDS</u>	

#### TUBERCULOSE EXPÉRIMENTALE DU LAPIN.

Ces faits sont facilement vérifiés par l'étude de la tuberculose expérimentale du lapin (tableau II).

L'inoculation de la souche sauvage « Canard » naturellement résistante à 200  $\mu$ g d'INH par millilitre, à la dose de 1 mg (poids humide) par voie intraveineuse, entraîne la mort au dix-neuvième jour ; l'autopsie montre une ascite, une hypertrophie considérable

de la rate, du foie et des lésions miliaries de cet organe et des poumons. L'inoculation aux mêmes doses de la souche homologue fortement résistante à l'INH est incapable d'entraîner la mort des animaux. Aucune lésion n'est observée à l'autopsie, le cent quarantième jour ; la culture des organes est alors stérile.

TABLEAU II. — Infection expérimentale du lapin par les bacilles aviaires « sauvages » ou ayant acquis une forte résistance à l'INH.

LAPINS N°	SOUCHES	DOSES voie intra-veineuse	DELAI DE SURVIE LÉSIONS	CULTURES DES ORGANES
1	"Canard" Naturellement Résistante à 200 µg d'INH par ml (partiellement à 400 µg)	1 mg	Mort au 19e jour Lésions miliaries des poumons et du foie Ascite	Poumons ∞ Rate ∞ Foie ∞ Ascite ∞
2	"Canard" Résistante à 3000 µg d'INH par ml	1 mg	Sacrifice au 140e jour <u>AUCUNE LÉSION</u>	Poumons 0 Rate 0 Foie 0
3	"Canard" Résistante à 3000 µg d'INH par ml	1 mg	Vivant au 140e jour <u>Gain de poids</u> <u>de 1,500 kg</u>	

Cette étude permet donc de vérifier que certaines souches aviaires « sauvages », catalase et peroxydase positives, conservent leur pouvoir pathogène pour certains hôtes, poules ou lapins, malgré une résistance naturelle à l'INH très élevée. L'acquisition d'une résistance à l'INH environ dix fois supérieure à la résistance initiale entraîne une perte de leur pouvoir pathogène pour la poule et le lapin et l'étude bactériologique montre une stérilisation des organes. Ces faits confirment donc les notions générales établies à la suite de travaux effectués sur les Mycobactéries humaines et bovines INH résistantes. On trouvera dans une étude plus détaillée les résultats des études bactériologiques et anatomo-pathologiques, des recherches sur l'activité enzymatique et immunisante de ces Mycobactéries aviaires devenues fortement résistantes à l'isoniazide.

★★

Ont également pris part à la discussion, MM. CHABBERT, DELAUNAY, DROUHET, FASQUELLE, GERNEZ-RIEUX, LE MINOR, LEVADITI, PANTHIER, PRÉVOT, RIST, M<sup>lle</sup> STAUB.

## CONCLUSIONS

par J. REILLY.

Les thérapeutiques dont nous disposons aujourd'hui n'ont pas eu pour seul effet de transformer l'évolution des maladies infectieuses ; elles ont accru nos connaissances sur leur physio-pathologie et sur la physiologie des germes qui les provoquent. Par un juste retour, ces notions ont permis de mieux préciser les indications de l'antibiothérapie comme aussi la limite des espérances que l'on peut fonder sur leur emploi. C'est la tâche qu'ont remplie les rapporteurs.

Une première conclusion se dégage de leurs exposés : l'influence qu'exerce la nature des foyers infectieux sur l'avenir des populations microbiennes soumises au traitement. Rapide est la stérilisation des foyers inflammatoires aigus, encore que l'ampleur des phénomènes réactionnels nécessite parfois l'administration de la cortisone dont l'efficacité a mis en lumière le rôle des régulations hormonales au cours des infections ; plus lente la stérilisation des foyers fibrineux, tels ceux de la maladie d'Osler. Mais c'est au cours des septicémies que s'affirme la prééminence, longtemps méconnue, des foyers sur l'infection sanguine, car de leurs caractères vont dépendre les succès, les échecs, les accidents de la médication.

Si, comme l'a indiqué M. Fasquelle, la guérison des septicémies post-angineuses, d'origine thrombo-phlébitique, peut être obtenue en un bref délai, c'est que l'infection sanguine procède d'un foyer très limité, malencontreusement situé dans une veine d'où il peut émettre des embolies, sources de métastases lointaines, mais qui n'en est pas moins réduit à un caillot septique. Même rapidité des succès dans les septicémies d'origine lymphatique (fièvre typhoïde, brucelloses), où les multiples foyers disséminés dans les ganglions et la rate sont de faibles dimensions et souvent même réduits à des micro-foyers.

Les résultats sont autrement aléatoires dans les septicémies d'origine utérine, quel que soit le germe en cause. Ici, un volumineux foyer, dans lequel les germes se multiplient avec luxuriance, élaborent leurs toxines qui atteignent par les sinus veineux béants le torrent circulatoire puis, par leurs enzymes, désintègrent les débris placentaires nécrosés et l'organe lui-même, livrant ainsi au milieu sanguin tous les produits issus du catabolisme cellulaire. Un grand pas sera fait le jour où nous saurons les caractériser, nous opposer à leur action et supprimer cette

intoxication surajoutée devant laquelle nos ressources sont trop souvent impuissantes.

Vient le temps où, sous l'effet de l'antibiothérapie, les foyers laissent à leur tour pénétrer dans la circulation les produits de la lyse microbienne. Que ceux-ci aient la toxicité de l'antigène O des salmonelles et soient brusquement libérés, surviendront les graves accidents observés chez les typhiques après administration de doses élevées de chloramphénicol. Que, beaucoup moins toxiques, ces produits affectent un organisme déjà sensibilisé à leur égard par le jeu de l'infection naturelle (brucellose), et l'on assistera au seul dérèglement des centres thermiques, caractérisé par une ou plusieurs ascensions fébriles passagères. Encore faut-il tenir compte de la fragilité constitutionnelle de certains sujets et savoir que chez le jeune enfant la vulnérabilité des centres diencéphaliques et son retentissement hypophysaire ont parfois entraîné l'éclosion d'un syndrome malin.

Une autre responsabilité incombant aux foyers tient dans l'apparition d'une rechute (fièvre typhoïde et surtout brucellose). Elle est la conséquence de leur revascularisation qui permet aux germes ayant échappé à l'action des antibiotiques d'envahir à nouveau le torrent circulatoire et d'essaimer à distance. D'où l'intérêt de l'antigénotherapie associée qui, provoquant une réaction focale, disloque les gîtes microbiens et les rend accessibles à la médication.

Avec la multiplicité de ses formes anatomo-cliniques, l'infection tuberculeuse constitue le plus probant exemple de l'étroite corrélation entre la structure des foyers et l'action des antibiotiques sur les germes qui y sont inclus. Les travaux de M. Canetti en ont montré toutes les incidences : ici encore, résolution rapide des foyers exsudatifs et des micro-foyers de la tuberculose miliaire ; effet nul sur les foyers caséux fermés, en raison du ralentissement métabolique des bacilles ; impossibilité de prévenir leur résistance au niveau des cavernes et maintien, dans une proportion élevée de cas, d'une population de germes résistants. Parmi les différentes causes de ces derniers échecs prend place l'insuffisance de pénétration des antibiotiques due à des facteurs locaux, d'ordre physico-chimique, et sur lesquels nos connaissances sont encore très fragmentaires. Par ailleurs, M. Noël Rist, envisageant les diverses hypothèses qui permettraient d'expliquer pourquoi des bacilles fortement résistants à l'isoniazide, et peu pathogènes pour le cobaye, le demeurent pour l'homme, est conduit à invoquer l'existence d'une anomalie locale. Si bien que par un cheminement détourné, l'antibiothérapie nous ramène à l'étude de la pathologie tissulaire.

Mais parallèlement à l'heureuse évolution des malades infectieuses, nombre d'espèces microbiennes, dont M. Chabbert, nous



a donné un très fidèle inventaire, évoluaient fâcheusement vers la résistance. La faute en fut parfois à notre inexpérience. Nul doute, par exemple, que la résistance acquise *in vivo* par un individu microbien n'ait été trop souvent la conséquence d'un traitement inadéquat, longtemps poursuivi avec un seul antibiotique, malgré un résultat médiocre. L'emploi d'associations d'antibiotiques, douées d'un fort pouvoir bactéricide, devrait, dans l'avenir, assurer leur disparition qui d'ailleurs s'opère spontanément.

Plus préoccupante est la sélection de souches résistantes au sein d'espèces hétérogènes. Ici encore, le déplorable abus d'antibiotiques, leur prescription à titre prophylactique ont contribué à leur émergence. D'autant qu'ils coïncidèrent avec un relâchement des mesures d'hygiène. Leur application rigoureuse, l'isolement des porteurs s'imposent dans les milieux hospitaliers où certaines souches deviennent progressivement insensibles aux antibiotiques usuels qui y sont journallement maniés. Les mêmes règles sont d'ailleurs appliquées par les phtisiologues qui, en outre, réservent la chimioprophylaxie à une proportion très faible d'infections tuberculeuses latentes.

Certes, l'emploi d'associations judicieusement contrôlées par les techniques courantes, leur généralisation, l'espoir non chimérique, de voir surgir de nouveaux antibiotiques capables de maîtriser cette flore nouvelle que le Rapporteur a qualifiée de « microbes d'avenir », ouvrent des perspectives optimistes. A l'homme de laboratoire, elles n'en montrent pas moins l'impérieuse nécessité de progrès que seule l'union de diverses disciplines permettra d'accomplir. Ils comprennent notamment : l'obtention de substances capables d'inhiber la résistance microbienne, la connaissance des diverses particularités physico-chimiques des différents foyers infectieux qui annihilent l'activité de la médication, enfin et surtout la découverte des mécanismes biochimiques grâce auxquels des germes, dont une ou plusieurs fonctions enzymatiques ont été troublées par les antibiotiques, parviennent à maintenir leur métabolisme. L'exposé du professeur Gernez-Rieux, le rapport de M. Kreis, nous ont indiqué les résultats déjà obtenus dans cette voie pour le bacille tuberculeux.

Au clinicien, il appartient de reconnaître que le maniement de l'antibiothérapie est plus délicat qu'il ne l'avait initialement estimé. Il doit s'enquérir non seulement de la résistance du germe, de ses propriétés toxiques, de son équipement enzymatique, mais encore apprécier les caractères des foyers infectieux, surprendre les premiers indices d'un dérèglement neuro-hormonal, avec ses perturbations métaboliques, ou d'une réaction d'hyper-sensibilité, bref instituer un traitement qui soit à la fois étiologique et fonctionnel.

# SOCIÉTÉ FRANÇAISE DE MICROBIOLOGIE

(Institut Pasteur, 25, rue du Docteur-Roux, Paris, 15<sup>e</sup>)

Séance du 14 mai 1959.

Présidence de M. PRÉVOT.

## COMMUNICATIONS

### **SENSIBILITÉ DE *BIFIDIBACTERIUM BIFIDUM* A ONZE ANTIBIOTIQUES**

par E. de LAVERGNE, J.-C. BURDIN, J. SCHMITT et M. MANCIAUX.

(Laboratoire Central des Hôpitaux  
et Laboratoire de Bactériologie de la Faculté de Médecine de Nancy)

Il peut paraître paradoxal de déterminer la sensibilité aux antibiotiques d'une bactérie saprophyte telle *B. bifidum*, et c'est vraisemblablement ce qui explique qu'aucun travail, à notre connaissance, n'ait été fait en ce domaine. Ce germe, on le sait, constitue presque exclusivement la flore intestinale du nourrisson au sein et disparaît dès qu'un allaitement artificiel est administré. Les pédiatres ayant pu comparer sur des milliers d'enfants la mortalité et la morbidité constatèrent que celles-ci étaient nettement plus basses chez les nourrissons au sein. Ils pensèrent que la présence de *B. bifidum* n'était pas étrangère à ce fait et que cette flore devait être protégée en attendant de déterminer si le germe était responsable ou seulement témoin de l'eutrophie du nourrisson au sein. Et c'est ainsi que nous avons été amenés à étudier le comportement de *B. bifidum* vis-à-vis des antibiotiques les plus couramment utilisés en clinique, non pour chercher à le détruire, mais tout au contraire dans le but de préciser les antibiotiques les moins inhibiteurs pour ce germe.

**TECHNIQUE.** — Vingt souches de *B. bifidum* isolées des selles de nourrissons au sein, bien portants, ont été testées par la technique des disques en milieu solide, telle qu'elle a été décrite par Beerens. Les antibiotiques suivants furent utilisés : pénicilline, streptomycine, chloromycétine, auréomycine, terramycine, érythromycine, spiramycine, novobiocine, oléandomycine, néomycine, framycétine. Après quarante-huit heures d'étuve, les tubes étaient examinés et le diamètre d'inhi-

bition de *B. bifidum* par les antibiotiques était mesuré soigneusement en millimètres. Les résultats sont exposés dans le tableau I.

TABLEAU I. — Diamètres d'inhibition (en millimètres) de *B. bifidum* par les antibiotiques.

SOUCHES de <i>B. BIFIDUM</i> :	P	S	C	A	T	E	Sp.	Nov.	Olé.	Fr.	Néom.
VI.	15	18	34	20	20	36	40	20		14	14
LUC.	20	10	48	19	20	60	61	32	30	36	35
ANT.	18	4	42	15	15	52	52	33	32	24	31
CU.	19	15	33	17	18	50	52	25	31	31	32
PRA.	20	8	43	12	12	35	35	19		25	14
LE.	32	10	50	16	12	70		40		30	30
BUR.	33	0	45	16	10	56	50	23	48	9	10
G.	36	0	40	12	15	58	60	22	50	14	10
OUA.	33	0	43	10	12	55	58	20	47	6	16
AUB.	28	0	38	13	12	50	50	18	40	16	17
LU.	20	20	40	16	17	50	48	18	48	19	17
BAL.	25	0	37	12	13	43	45	16	43	13	13
BAD.	15	0	43	15	19	44	48	30	40	18	26
PRO.	20	0	39	13	20	40	43	28	36	13	16
DE.	18	0	40	20	23	43	46	27	36	18	24
RI.	19	2	39	19	22	50	50	34	42	29	30
HO.	17	0	46	22	23	59	60	31	50	39	26
CO.	26	0	56	13	18	68	69	29	69	20	29
LA.	38	0	43	24	16	54	54	20	50	22	26
AUR.	32	10	30	28	30	34	42	34	8	14	16

P, pénicilline. S, streptomycine. C, chloromycétine. A, aureomycine. T, terramycine. E, érythromycine. Sp, spiramycine. Nov., novobiocine. Oléo., oléandomycine. Fr., framycétine. Néom., néomycine

On peut se demander à quoi correspondent ces zones d'inhibition. Dans un travail précédent, nous avons établi un tableau de correspondance entre diamètres d'inhibition (en milieu solide) d'une souche anaérobie stricte et sa sensibilité (en milieu liquide) à un antibiotique déterminé exprimée en microgrammes. Dans le tableau II nous rappelons les résultats alors obtenus. Nous l'avons complété avec l'oléandomycine et la novobiocine, car en 1956, date à laquelle nous avons publié ce travail, ces deux antibiotiques n'étaient pas encore couramment utilisés. Signalons que par la technique de Chabbert nous avons obtenu des résultats comparables.

TABLEAU II. — Correspondance entre zones d'inhibition (en milieu solide) et sensibilités aux différents antibiotiques (en milieu liquide).

ANTIBIOTIQUES	: DIAMETRES	- SENSIBILITES	.
PENICILLINE	: < 15 mm	> 0,3 Unités	: souche résistante
	: > 25 mm	< 0,2 -	: - sensible
STREPTOMYCINE	: < 25 mm	> 10 Gamma	: - résistante
	: > 30 mm	< 5 -	: - sensible
CHLOROMYCETINE	: > 25 mm	< 15 -	: - sensible
AUREO-TERRAMYCINE	: > 20 mm	< 5 -	: - sensible
ERYTHROMYCINE	: < 15 mm	> 4 -	: - résistante
	: > 20 mm	< 2 -	: - sensible
SPIRAMYCINE	: < 20 mm	> 10 -	: - résistante
	: > 25 mm	< 5 -	: - sensible
NEOMYCINE	: < 30 mm	> 10 -	: - résistante
FRAMYCETINE	: < 30 mm	> 2 -	: - résistante
OLEANDOMYCINE	: > 36 mm	< 0,15 -	: - sensible
NOVOBIOCINE	: > 16 mm	< 10 gamma	: - sensible

DISCUSSION. — A la lumière de ces chiffres nous voyons finalement que le comportement de nos 20 souches de *B. bifidum* est tout à fait comparable. Ce germe se révèle, en effet, sensible à la chloromycétine, l'érythromycine, la spiramycine et l'oléandomycine; limite pour les tétracyclines et la novobiocine; résistant à la streptomycine, néomycine, framycétine. En réalité, ces résultats doivent être corrigés. Dire, en effet, qu'un germe est sensible ou résistant à tel ou tel antibiotique signifie qu'il est inhibé ou non par la concentration humorale de cet antibiotique administré dans un but thérapeutique. Or, il ne faut pas perdre de vue que *B. bifidum* demeure dans le tube digestif, car ceci entraîne deux conséquences: d'abord qu'il pourra échapper, tout au moins dans une certaine mesure, à l'action de certains antibiotiques administrés par voie parentérale, la pénicilline et la streptomycine par exemple; ensuite que des antibiotiques peu actifs comme les tétracyclines ou la framycétine, lorsqu'ils sont absorbés par voie digestive, pourront arriver dans l'intestin au contact du germe à des doses très importantes, capables alors d'inhiber le développement de *B. bifidum*.

Les faits confirment ces réflexions. Nous avons en effet cherché à isoler *B. bifidum* des selles d'enfants nourris au sein. Or, chez ceux traités par la chloromycétine, la spiramycine ou l'érythromycine, antibiotiques actifs sur *B. bifidum* et administrés par voie buccale, la flore bifide était décapitée en vingt-quatre ou quarante-huit heures et le taux du germe tombait alors de 70 p. 100 à 0 p. 100. Un taux de 60 p. 100 de *B. bifidum* était, par contre, décelé chez des nourrissons traités par



la pénicilline, la streptomycine et la néomycine. Enfin, les tétracyclines et la framycétine abaissent parfois à 20 ou 30 p. 100 environ le taux de *B. bifidum*, sans réussir néanmoins à le faire disparaître entièrement.

On voit donc, en conclusion, que si un nourrisson porteur de *B. bifidum* doit être traité par les antibiotiques, dans la mesure où le permettra l'indication thérapeutique c'est la pénicilline et la streptomycine qui devront être retenues, car ces antibiotiques sont peu inhibiteurs pour ce germe.

RÉSUMÉ. — Les auteurs ont étudié le comportement de 20 souches de *B. bifidum* vis-à-vis des antibiotiques les plus fréquemment utilisés en clinique. *In vitro*, le germe se révèle sensible à de nombreux antibiotiques. *In vivo*, c'est la pénicilline et la streptomycine qui semblent les antibiotiques les moins inhibiteurs pour le germe.

#### SUMMARY

SENSITIVITY OF *Bifidobacterium bifidum* TO ELEVEN ANTIBIOTICS.

The authors study the comportment of twenty strains of *B. bifidum* towards the most often utilized antibiotics.

*In vitro*, *B. bifidum* is sensitive to many antibiotics. *In vivo*, penicillin and streptomycin are the less active of the antibiotics experimented.

### UN NOUVEAU SÉROTYPE DE *SALMONELLA* : *S. FARCHA*

par L. LE MINOR, M. THOME, P. PERREAU  
et Ch. CHARIE-MARSAINES.

(Institut Pasteur)

Cette souche a été isolée au cours d'une recherche systématique de *Salmonella* dans les ganglions mésentériques de chèvres à Fort-Lamy (Tchad). Elle ne possède pas d'uréase, ne cultive pas sur milieu au CNK. La recherche de la lysine-décarboxylase par la méthode de Carlquist est positive. Les oses et alcools suivants sont fermentés en un jour : xylose, arabinose, rhamnose, glucose (+ gaz), mannitol, sorbitol, dulcitol, maltose, tréhalose, glycérol (milieu de Stern). Adonitol, sorbose, lactose, saccharose, inositol et salicine ne sont pas fermentés. Cette *Salmonella* cultive sur milieu de Simmons au citrate de sodium, n'attaque pas le D-tartrate de sodium en milieu de Kauffmann, ne protéolyse pas la gélatine, ne produit pas d'indole. La production d'H<sub>2</sub>S est abondante, la réaction du rouge de méthyle positive et celle de Voges-Proskauer négative. Sur lames la culture est agglutinée par les sérums O : 43 et γ. La culture en présence de sérum anti-γ fait apparaître une agglutination dans les sérums anti 1,2 et 2 pur. Les satu-

rations des sérums 43 préparé avec *S. milwaukee*,  $\gamma$  préparé avec *S. mikawasima* et 1,2 préparé avec *S. paratyphi* B sont totales. La formule est donc 43 :  $\gamma$  : 1,2.

RÉSUMÉ. — Description d'un nouveau sérotype de *Salmonella*, *S. farcha*, isolé au Tchad de ganglions de chèvres.

#### SUMMARY

A NEW *Salmonella* SEROTYPE : *S. farcha*.

Description of a new *Salmonella* serotype, *S. farcha*, isolated from mesenteric nodes in goats at Fort-Lamy (Tchad).

---

### FORMES FILTRABLES D'EBERTHELLA TYPHI OBTENUES PAR L'ACTION DU LYSOZYME

par L. COLOBERT et P. LOUISOT.

(Laboratoire de Bactériologie de la Section Technique de Recherches  
et d'Etudes des Services de Santé des Armées,  
108, boulevard Pinel, Lyon)

Lorsqu'on fait agir le lysozyme sur les salmonelles en présence d'EDTA (1) dans un milieu contenant du saccharose 0,1 M, l'action du lysozyme se limite à la dissolution de la paroi ectoplasmique [2] ; la masse protoplasmique de chaque bactérie, au lieu de se disperser dans le milieu, demeure cohérente et constitue un *protoplaste*, dont l'activité respiratoire reste égale à celle de la bactérie intacte. En l'absence de saccharose dont le rôle est d'élever suffisamment la tonicité du milieu pour équilibrer la pression osmotique interne des protoplastes, la lyse est totale et le protoplasme se répand dans le milieu sous forme de granules de 100  $m\mu$  de diamètre environ [3]. Ces granules sont très fragiles et se dissolvent eux-mêmes rapidement ; il ne persiste bientôt plus comme éléments figurés dans les suspensions qu'un autre type de granules ayant de 250 à 300  $m\mu$  de diamètre, qui semblent bien représenter les « granulations polaires » de la salmonelle. Ces formations se distinguent donc des précédentes par leur plus petit nombre (deux en moyenne par bactérie), par leurs plus grandes dimensions et leur fragilité moindre.

Nous nous sommes demandé si l'un ou l'autre de ces éléments ne s'identifierait pas à ceux du cycle L des bactéries — aux formes naines par exemple — et nous avons tenté de les cultiver dans le milieu liquide contenant de la pénicilline, du sérum et du saccharose 0,3 M,

(1) Sel de sodium de l'acide éthylène diamine tétracétique, spécialisé sous le nom de *Complexon III* ou de *Versène*.

qui a permis à Mandel d'obtenir des cultures luxuriantes des formations L de *Proteus* [7]. Les essais ont été pratiqués de la manière suivante.

Après un développement de vingt-quatre heures à 37° sur gélose ordinaire, les bactéries (*Eberthella typhi*, souche O 901) sont mises en suspension dans de l'eau, lavées deux fois à l'eau distillée, puis remises en suspension dans une solution tampon de trihydroxyaminométhane M/20 de pH 8,5. L'opacité de la suspension est ajustée à la densité optique de 0,800. A 24 cm<sup>3</sup> de cette suspension, on ajoute 3 cm<sup>3</sup> d'une solution de 80 mg d'EDTA dans 30 cm<sup>3</sup> de tampon, puis 3 cm<sup>3</sup> d'une solution dans le tampon, de lysozyme d'œuf cristallisé (2) ayant la concentration de 150 mg par centimètre cube. Toutes ces opérations sont réalisées à la température de 26° dans une enceinte thermostatique et stérilement, la stérilité des réactifs étant assurée par filtration préalable sur membrane de cellulose n° 6 (3). La lyse est alors suivie au photomètre jusqu'à la densité optique de 0,200 qui marque son point final (4), ce qui est obtenu en quinze minutes environ. A ce stade, l'examen au microscope électronique permet de constater qu'il ne persiste plus de bactéries intactes et que le protoplasme est dispersé dans le milieu sous forme de granules.

On procède alors à une filtration sur membrane de cellulose n° 6 de 30 mm de diamètre dans le but de retenir toute bactérie qui n'aurait pas été détruite. La dimension des pores de cette membrane est comprise entre 300 et 200 mμ, et la longue expérience que nous avons de son emploi permet d'assurer qu'elle ne permet pas le passage des bactéries et en particulier de celles de la famille des *Enterobacteriaceae*. La filtration est réalisée sous une dépression de 74 cm de mercure à l'aide d'une trompe à eau, et se trouve achevée en dix minutes environ, le filtre se colmatant assez rapidement.

Le filtrat est ensemencé à raison de 1 cm<sup>3</sup> pour 100 cm<sup>3</sup> dans le milieu suivant.

Du bouillon bactériologique ordinaire est préparé directement à partir de la viande de bœuf fraîche suivant la technique de Dumas [4] ; on ajoute par litre 20 g de peptone Vaillant 5B (5) et 5 g de chlorure de sodium. Dans un litre de ce bouillon, on dissout 102,7 g de saccharose pur pour obtenir la concentration finale 0,3 M. On stérilise par filtration sur bougie Chamberland L<sub>3</sub> (6). On ajoute 2.10<sup>6</sup> unités de pénicilline.

(2) Lysozyme d'œuf recristallisé deux fois, fourni par la firme Armour de Fob Kankakee, Illinois, Etats-Unis d'Amérique.

(3) Membranfilter-Gesellschaft Sartorius-Werke A. G. u. Co. Göttingen, représenté en France par Labo-Moderne, 6, rue de la Vrillière, Paris. Les membranes n° 6 ont des pores d'un diamètre compris entre 300 et 200 mμ et le temps de la filtration de 100 cm<sup>3</sup> d'eau pour 100 cm<sup>2</sup> de surface filtrante sous une différence de pression de 1 atm., est de vingt à trente secondes.

(4) Cette densité optique résiduelle encore élevée n'est pas due à la persistance de bactéries non lysées, mais à la présence de grandes quantités de lipides libérés lors de la dissolution de la paroi.

(5) Laboratoire Vaillant-Defresne, 77, rue Falguière, Paris.

(6) Filtres Chamberland, système Pasteur, 80 bis, rue Dutot, Paris. Les bougies L3 retiennent les bactéries de taille moyenne et les spores.

cilline et 200 cm<sup>3</sup> de sérum de cheval stérile préalablement inactivé par chauffage, vingt minutes à 56°. On en remplit alors des ballons de 100 cm<sup>3</sup> à col étranglé (ballons dits de Gory et Jaubert pour anaérobiose) que l'onensemence immédiatement. On agite ensuite vivement à l'aide d'une machine à secousses pendant trente minutes comme Mandel le recommande [7], puis les ballons sont incubés à 37°.

Dans ces conditions, aucun développement ni de formations L, ni de bactéries n'apparaît pendant la durée d'observation de deux semaines. Les mêmes expériences ont alors été reprises à l'aide du même milieu et dans les mêmes conditions, mais en l'absence de pénicilline dont la présence était simplement destinée à éviter la reconversion en bactéries normales des formations L éventuelles. Dans ce cas, on observe régulièrement un développement bactérien seulement après douze à vingt-quatre heures d'incubation à 37°, développement qui devient rapidement extrêmement abondant. L'isolement et l'identification permettent de constater que l'on a affaire à la souche O 901 d'*Eberthella typhi*. Des ballons témoins non ensemencés à partir du filtrat demeurant stériles, de même que *des ballons de bouillon bactériologique ordinaire ensemencés à l'aide du filtrat*. Il semble donc que l'on puisse écarter l'éventualité d'une souillure accidentelle et que l'on soit en droit de conclure que le filtrat qui ne contient pas de bactéries normales capables de développement sur les milieux usuels contient des éléments capables de régénérer en un délai très court les bactéries normales, à condition de les cultiver sur un bouillon enrichi de sérum et fortement saccharosé.

Afin d'obtenir quelques indications sur la nature des formes filtrables, nous avons tout d'abord cherché à évaluer leur degré de persistance dans le filtrat conservé sans précaution spéciale à la température ordinaire. Nous avons constaté qu'en ensemencant après douze et vingt-quatre heures, le développement bactérien se produisait parfaitement ; or, il est certain qu'au bout d'un temps bien moins long les granules cytoplasmiques de 100 m $\mu$  seraient complètement autolysés. D'autre part, nous avons essayé d'évaluer le nombre des formes filtrables. Si l'on avait affaire aux granulations cytoplasmiques, on devrait trouver un titre en « formes filtrables » beaucoup plus élevé que celui des bactéries, puisque chacune d'elle en contient une quarantaine ; si l'on avait affaire aux granulations polaires, le titre devrait être environ le double de celui des bactéries. Nous avons trouvé que le filtrat d'une suspension traitée par le lysozyme, qui contenait primitivement 10<sup>12</sup> germes par centimètre cube capables de développement sur gélose ordinaire, contenait lui aussi environ 10<sup>12</sup> formes filtrables par centimètre cube capables de développement sur milieu spécial. En réalité, ce résultat est difficile à interpréter, car le filtre se colmate et il est très vraisemblable qu'un certain nombre de formes filtrables sont retenues de ce fait, mais il n'en reste pas moins qu'un titre aussi élevé constitue un argument supplémentaire en faveur de la correction technique de la sélectivité de la filtration.

Nous n'avions pas l'intention de publier ces observations déjà anciennes avant de les avoir précisées dans un travail ultérieur. Mais celui-ci ne peut être entrepris avant longtemps par notre laboratoire engagé dans d'autres recherches et la lecture de l'article de Hauduroy sur *Les*



*cycles filtrants des bactéries* [5] nous a déterminés à attirer l'attention dès maintenant sur ce procédé de culture en milieu saccharosé enrichi de sérum, très supérieur à ceux préconisés jusqu'ici. Il se peut qu'il soit d'un emploi très général et il aurait de plus le mérite d'être facilement adaptable aux techniques d'hémoculture.

RÉSUMÉ. — Au cours de la lyse d'*Eberthella typhi* obtenue par l'action du lysozyme en présence d'EDTA, apparaissent des formes filtrables en nombre au moins égal à celui des bactéries, capables de régénérer en quelques heures les formes bacillaires normales lorsqu'elles sont cultivées dans un bouillon contenant du saccharose 0,3 M et 20 p. 100 de sérum. La culture en milieu pénicilliné n'a pas permis d'obtenir directement le développement d'éléments du cycle L. Il est possible que les formes filtrables s'identifient aux granules polaires des bactéries, habituellement au nombre de deux, mesurant environ 300 m $\mu$  de diamètre, et qui ont été considérés par Bradfield comme des granules de volutine [4], par Mudd comme des mitochondries [8] et par Knaysi comme les appareils nucléaires [6].

## SUMMARY

FILTERABLE FORMS OF *Eberthella typhi* OBTAINED BY MEANS OF  
LYSOZYME.

During lysis of *E. typhi* induced by lysozyme in the presence of EDTA, filterable forms appear. Their number is at least as high as that of the bacteria; they are able to regenerate in a few hours the normal bacillary forms, when cultivated in broth containing 0,3 M sucrose and 20 % serum. The cultivation in presence of penicillin did not allow to obtain any element of the L cycle. The filterable forms might be identical with the bacterial polar granules, which are generally two, having 300 m $\mu$  diameter, and which are considered by Bradfield as volutine granules [4], by Mudd as mitochondria [8], and by Knaysi as nuclei [6].

## BIBLIOGRAPHIE

- [1] BRADFIELD (J. R. G.). *Bacterial anatomy, 6th Symposium of the Society for general Microbiology*, University Press, 1956, 303.
- [2] COLOBERT (L.). *Ann. Inst. Pasteur*, 1958, **95**, 156.
- [3] COLOBERT (L.) et LOUISOT (P.). *Ann. Inst. Pasteur*, 1958, **94**, 463.
- [4] DUMAS (J.) et coll. *Bactériologie Médicale*, Flammarion, édit., Paris, 1958, 131.
- [5] HAUDUROY (P.). In *Exposés Annuels de Biologie Cellulaire. Problèmes d'organisation et de fonctions chez les bactéries et les virus*, 1959. 143, Masson et C<sup>ie</sup>, édit., Paris.
- [6] KNAYSI (G.). *J. Bact.*, 1957, **74**, 12.
- [7] MANDEL (J.), TERRANOVA (T.) et SENSENBREMEK (M.). *C. R. Acad. Sci.*, 1957, **245**, 1469.
- [8] MUDD (S.). *Ann. Rev. Microbiol.*, 1944, **8**, 1.



enrichissants, ne donne aucune des réactions biochimiques utilisées pour le diagnostic des Entérobactéries [8, 42] (tableau I). Seul le sélénite donne une pousse maigre (quelques colonies après repiquage sur gélose ordinaire).

C'est un *Achromobacter* [4, 3, 5, 7], aux « caractéristiques négatives », si l'on excepte l'attaque lente de la gélatine au bout d'un mois environ.

En eau peptonée à 1 p. 100, en quarante-huit heures il n'attaque aucun des sucres qui lui ont été soumis. Ses caractéristiques sont détaillées dans le tableau II.

TABLEAU II.

MILIEUX OU RÉACTIONS	RÉSULTATS
Gélose ordinaire (24 h.).....	Pousse discrète, colonie petite, surélevée, transparente.
Bouillon ordinaire (24 h.).....	A peine trouble.
Gélose sang lapin .....	Pas d'hémolyse.
Sérum coagulé .....	Absence de pigment. Absence de liquéfaction.
Tubes de Besson .....	Glucosé = pas de fermentation. Lactosé = pas de fermentation. Action sur le rouge neutre = nulle.
Mannitol — mobilité .....	Pas de fermentation. Mobilité nulle.
Hajna .....	Pente rose. Culot inchangé.
SH <sub>2</sub> (papier au sous-acétate de Pb)...	Négatif.
Lait tournesolé .....	Inchangé après 24 h. à 37° et 10 jours à 20° C.
Gélatine .....	Liquéfiée après 1 mois à 20°.
Nitrates .....	Absence de réduction.
Urée .....	Positive.
Lactose 10 % .....	Absence de fermentation.
IMVIC .....	— — — —
Pouvoir pathogène (souris) .....	Septicopyhémie lente.

C'est un *Acinetobacter* par son caractère d'immobilité [4, 6], variété uréolytique. Cette uréolyse est constante :

Sur le milieu « urée tamponnée » préconisé par Brisou [6], l'attaque a lieu une heure environ après l'ensemencement, le milieu vire au « bleu roi ».

Sur l'urée-indole, le virage au rose franc est plus tardif, environ deux à trois heures après l'ensemencement.

Le milieu de Ferguson, rendu solide par addition de 20 p. 1 000 de gélose (couramment utilisé au Laboratoire de Bactériologie du C. H. R. de Purpan), vire au rose franc dans les mêmes délais de deux à trois heures après l'ensemencement.

Le germe ne pousse pas sur le Kristensen.

Comparé à certaines souches de *M. lwoffii* [10], ce germe tue lentement la souris, avec métastases suppurées. 1 cm<sup>3</sup> d'une émulsion épaisse en eau physiologique, à partir d'une culture de 24 heures sur gélose (environ 5 milliards de germes par centimètre cube), inoculé par voie intrapéritonéale, ne paraît produire sur l'animal qu'un choc momentané (aspect frileux, poil hérissé). Le rétablissement est spectaculaire dès le lendemain, mais au sixième jour l'animal meurt, porteur d'un abcès sous-maxillaire dans lequel le germe est retrouvé à l'état pur.

L'hémoculture à partir du sang du cœur est négative.

Les cultures à partir du liquide intrapéritonéal, des frottis de la rate et du foie sont également négatives.

La présence d'une uréase active est un fait peu commun dans ce groupe et qu'il nous a paru intéressant de signaler.

Il existe quatre espèces actuellement connues d'*Acinetobacter* non glucidolytiques, sans action sur les nitrates et la gélatine. Ce sont *Ac. lwoffii*, *Ac. viscosum*, *Ac. metalcaligenes* et *Ac. cyprinicida*. Une seule espèce se différencie des précédentes par son pouvoir protéolytique, c'est *Ac. marshallii*.

Il existe bien des variantes uréolytiques de *Klebsiella*, rien n'empêche d'admettre cette éventualité dans l'espèce *Ac. marshallii*. Nous pouvons donc parler d'une variante uréolytique d'*Ac. marshallii*.

RÉSUMÉ. — Etude bactériologique d'un germe isolé de plaie suppurée chez l'homme. Ce germe ne présente aucun des caractères des Entérobactéries.

C'est un *Acinetobacter* répondant aux caractéristiques d'*Ac. marshallii*, mais avec une uréase positive, ce qui oblige à admettre l'existence de variantes uréolytiques d'*Ac. marshallii*.

## SUMMARY

### ISOLATION IN MAN OF A UREASE-POSITIVE *Acinetobacter*.

Bacteriological study of a germ isolated from a suppurated wound in man, and which does not possess any of the *Enterobacteriaceae* properties.

It is an *Acinetobacter* possessing the characteristics of *Acinetobacter marshallii*, but presenting a urease-positive reaction, proving the existence of ureolytic variants of *Ac. marshallii*.

## BIBLIOGRAPHIE

- [1] BRISOU (J.). *Ann. Inst. Pasteur*, 1953, **84**, 812.
- [2] BRISOU (J.). *Biol. Méd.*, 1954, n° 1, 37.
- [3] BRISOU (J.) et PRÉVOT (A.-R.). *Ann. Inst. Pasteur* 1954, **86**, 722.
- [4] BRISOU (J.). *Ann. Inst. Pasteur*, 1957, **92**, 134.
- [5] BRISOU (J.). *Ann. Inst. Pasteur*, 1957, **93**, 397.
- [6] BRISOU (J.). *Etude de quelques « Pseudomonadaceae »*. Baillet, édit., Bordeaux.
- [7] BARREAU (J. E. G.). *Thèse Doct. Méd.*, Bordeaux, 1953.
- [8] CARLQUIST (Philip). *J. Bact.*, 1956, **71**, 339.



- [9] PIÉCHAUD (D.) et SECOND (L.). *Ann. Inst. Pasteur*, 1951, **80**, 97.  
[10] ROLAND (F.), BOURBON (D.) et SZTURM (M<sup>me</sup> S.). *Ann. Inst. Pasteur*, 1947, **73**, 914.  
[11] SCHAUB (I. G.) et HAUEER (F.). *J. Bact.*, 1948, **576**, 379.  
[12] THIBAUT (P.) et LE MINOR (L.). *Ann. Inst. Pasteur*, 1957, **92**, 551.  
[13] LEMOIGNE (M.), GIRARD (H.) et JACOBELLI (G.). *Ann. Inst. Pasteur*, 1952, **82**, 389.

## MILIEU DE CULTURE SIMPLIFIÉ POUR *TRICHOMONAS FÆTUS*

par Louis LAMY.

(Institut Pasteur, Service de Parasitologie)

Les nombreux travaux effectués sur le métabolisme des Flagellés appartenant au groupe des *Trichomonadines* ont montré les grandes exigences nutritives de ces Protozoaires.

La composition de certains milieux préconisés pour la culture de *T. vaginalis* et *T. fætus* en est l'illustration.

Nous n'avons pas l'intention de passer, ici, en revue la composition des différents milieux décrits, mais seulement d'indiquer à propos de *T. fætus* et malgré toutes ses exigences nutritives, qu'un milieu de culture favorable n'est pas forcément un milieu compliqué. Quand nous disons « compliqué », nous ne parlons ni qualitativement, ni quantitativement des différents éléments ou substances chimiques pouvant entrer dans sa composition réelle, mais uniquement de sa composition « globale ». Nous en avons le droit par comparaison avec d'autres milieux non synthétiques et tous, également, très empiriques.

Un milieu très utilisé, tel que celui qui a été décrit par M. Schneider en 1942, n'est pas particulièrement simple, ni en composition, ni en préparation : une phase solide à base d'œuf total et de sang de bœuf dans une solution saline ( $\text{ClNa}$ ,  $\text{CO}_3\text{NaH}$ ,  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{CO}_3\text{Na}_2$ ,  $\text{PO}_4\text{HNa}_2$  et glucose) et une phase liquide comprenant du sérum de bœuf liquide dans une autre solution saline ( $\text{ClNa}$ ,  $\text{SO}_4\text{Mg}$ , phosphate acide d'ammonium, phosphate dibasique de K, citrate de soude et glucose).

Fidèle à notre souci d'uniformiser la composition des milieux utilisables dans la culture des Protozoaires parasites, nous avons, tout d'abord, conservé *T. fætus* sur le milieu type dont nous avons parlé antérieurement (*Bull. Soc. Path. exot.*, 1952, **45**, 186) et comprenant un support coagulé à base de sérum de cheval, une phase liquide (Ringer-sérum) et un aliment figuré, l'amidon de riz.

En fait, nous entretenons, depuis plusieurs années, *T. fætus* (1) sur un milieu identique simplifié ne comprenant uniquement qu'une phase liquide constituée d'une solution de Ringer ( $\text{NaCl}$ , 6 g ;  $\text{CaCl}_2$ , 0,1 g ;  $\text{KCl}$ , 0,1 g ;  $\text{CO}_3\text{NaH}$ , 0,1 g ; eau distillée, 1 000 ml), additionnée de sérum de cheval liquide (1 partie de sérum pour 7 parties de Ringer, soit 15 ml de sérum pour 100 ml de Ringer) et d'une trace d'amidon

(1) Souche I. de Carneri.

de riz. Tous ces éléments sont stériles au départ. pH de départ : 7,2-7,4. Ce milieu, réparti à raison de 5 ml par tube de culture, se conserve indéfiniment à la glacière. L'amidon de riz n'est pas phagocyté aussi activement par *T. fetus* que par d'autres espèces, telles que *T. intestinalis* ou *T. vaginalis*, par exemple, probablement en raison du rapport de taille entre le Protozoaire et le grain d'amidon ; toutefois de petits fragments et certaines parties en solution sont tout de même utilisés et favorisent la multiplication. Sur un tel milieu, la culture à 37° est bonne, avec des groupes importants de Flagellés. Le repiquage doit être effectué tous les huit jours. Il n'est pas à dire que telle culture n'arrivera pas à tenir plus longtemps, mais nous avons choisi ce rythme comme optimum, ce qui nécessite des transferts ni trop fréquents, ni dangereusement espacés.

Si, pour une raison ou une autre, ce milieu n'a pas été utilisé d'emblée, on aura intérêt à essayer d'y adapter les différentes souches entretenues au laboratoire. En effet, ce milieu simple, sans support solide, est tout indiqué pour les essais chimiothérapiques *in vitro*. Disons, à ce propos, que nous utilisons ce milieu tel quel, sans addition d'aucun antibiotique. Nous avons signalé, à plusieurs reprises, le danger que peut présenter, pour tous les Protozoaires, la présence quasi continue de diverses substances antibiotiques et les erreurs susceptibles de se répercuter sur l'interprétation des essais chimiothérapiques *in vitro*.

D'autre part, l'utilisation du sérum de cheval élimine une partie du danger présenté par l'activité toujours possible du sérum de bovins sur des Flagellés spécifiques tels que *T. fetus*.

RÉSUMÉ. — Il est possible, pour la culture indéfinie de *T. fetus*, d'utiliser un milieu simple composé essentiellement d'une phase liquide comprenant une solution de Ringer additionnée de sérum de cheval liquide et d'une trace d'amidon de riz. pH de départ : 7,2-7,4. Culture à 37° C. Repiquage tous les huit jours.

## SUMMARY

### A SIMPLIFIED MEDIUM FOR CULTIVATION OF *Trichomonas fetus*.

*Trichomonas fetus* can be serially cultivated in a simple medium essentially constituted of a liquid phase : Ringer's solution + liquid horse serum and traces of rice-starch ; pH at the beginning : 7,2-7,4 ; temperature : 37°. Transfer every eight days.

## BIBLIOGRAPHIE

- CARNERI (I. de). *Am. J. trop. Med.*, 1956, **5**, 677.  
 FITZGERALD (P. R.), HAMMOND (D. M.) et SHUPE (L.). *Vet. Med.*, 1954, **49**, 409.  
 GROVES (H. G.). *Thèse Ohio State Univ.*, 1953.  
 KIRBY (H.). *J. Parasitol.*, 1951, **37**, 445.  
 PLASTRIDGE (W. M.). *J. Bact.*, 1943, **45**, 196.  
 SANDERS (M.). *J. Protozool.*, 1957, **4**, 118.  
 SCHNEIDER (M.). *J. Parasitol.*, 1942, **28**, 428.

## RECHERCHE ET NUMÉRATION DES BACTÉRIES COLICINOÈNES

par J.-F. VIEU.

(Institut Pasteur, Service des Bactériophages)

La technique « de la double couche de gélose » a été préconisée par Gratia [2] pour la démonstration des activités antibiotiques réciproques chez les bactéries aérobies. Elle est couramment utilisée pour l'étude des substances antibiotiques de nature protéique élaborées par les Entérobactériacées (bactériocines), et en particulier de celles qui sont actives sur *E. coli* (colicines). Elle a permis de constater la fréquence des souches colicinogènes chez les individus sains ou malades et peut être utilisée comme méthode de base pour leur mise en évidence.

Fredericq, Betz-Bareau et Nicolle [1], Hamon [4] ont étudié les modalités de l'activité colicinogène parmi les *E. coli* spécifiques des gastro-entérites infantiles, les *E. coli* pathogènes pour l'adulte et l'enfant et les *E. coli* banales. Aussi, il est devenu possible de définir certaines *E. coli* pathogènes non seulement par leurs chimiotypes, leurs sérotypes et leurs lysotypes, mais encore par leur sensibilité à un ensemble de colicines connues (colicinotypes) et par leur faculté d'élaborer une ou plusieurs colicines (Hamon, 1959 [5]).

Comme l'avait déjà suggéré Gratia (1946) il est donc vraisemblable que la recherche systématique des bactéries colicinogènes peut compléter utilement les techniques classiques d'examens des selles. Dans les diverses formes de dysbactérioses intestinales en particulier, elle peut révéler l'hétérogénéité d'une flore colibacillaire prédominante et apparemment uniforme, à condition cependant qu'il soit possible d'isoler avec certitude la ou les souches colicinogènes présentes et d'apprécier en même temps l'importance relative de chacune d'entre elles.

C'est précisément ce que nous avons cherché à réaliser dans un travail en cours concernant certaines Entérobactériacées colicinogènes rencontrées pendant la première et la seconde enfance.

Pour cela, la technique de Gratia est appliquée à trois préparations différentes obtenues à partir de la même selle : une suspension dense et homogène en eau distillée, une culture de 6 h. 30 à 37° (en bouillon, non aérée, non agitée) et une culture de 18 heures (en bouillon, non aérée et non agitée). A partir de chacune de ces trois préparations, on effectue des dilutions convenables (de  $10^{-4}$  à  $10^{-7}$  pour la suspension ; de  $10^{-6}$  à  $10^{-7}$  pour la culture de 6 h. 30 et de  $10^{-7}$  à  $10^{-8}$  pour la culture de 18 heures) ; 1 cm<sup>3</sup> de chaque dilution est incorporé à 3 cm<sup>3</sup> de gélose (17 p. 1 000 d'agar et 20 p. 1 000 de peptone tryptique) fondue à 100° et ramenée à 45°. La suspension gélosée ainsi obtenue est étalée en couche mince à la surface d'une plaque de gélose stérile

et, après solidification au réfrigérateur à  $+4^{\circ}$ , on coule une deuxième couche de  $10\text{ cm}^3$  de gélose à la surface de la première. Les boîtes de gélose (plusieurs pour chaque dilution) sont alors placées à  $37^{\circ}$ . Après quarante-huit heures d'incubation, des colonies bactériennes isolées se sont développées dans l'épaisseur de la gélose ; la souche détectrice *E. coli* K12 de Lederberg est étalée en surface et les boîtes sont placées dix-huit heures à  $37^{\circ}$ . Le lendemain, on peut constater l'apparition d'une ou plusieurs zones circulaires d'inhibition de la bactérie sensible ; chacune est centrée par une colonie bactérienne sous-jacente, à partir de laquelle l'antibiotique a diffusé dans l'épaisseur de la deuxième couche gélosée, empêchant ainsi la croissance normale de *E. coli* K12.

Les caractères morphologiques de ces zones d'inhibition, stériles ou piquetées de mutants résistants, sont soigneusement observés à la loupe, en transillumination oblique et à jour frisant ; ils permettent déjà de soupçonner, et parfois d'affirmer la présence, dans la suspension et dans les cultures, d'une ou de plusieurs bactéries colicinogènes, dont on appréciera l'importance relative par une numération du nombre total des colonies développées en double couche et du nombre respectif de chaque variété de colonie antibiotique.

C'est seulement l'isolement et la définition de chaque souche colicinogène, l'étude de son pouvoir d'élaborer une ou plusieurs bactériocines et les caractéristiques de ces dernières, qui permettront de confirmer ou de modifier les conclusions de ce premier examen.

Nous avons rassemblé dans le tableau ci-joint quelques résultats obtenus par cette méthode chez des enfants de 2 à 7 ans atteints de prurigo strophulus infantum (1) et dont plusieurs (cas n<sup>os</sup> 1, 2 et 3) présentaient des troubles digestifs subaigus ou chroniques. Le cas n<sup>o</sup> 6 est celui d'un nourrisson de 4 mois en bonne santé. Les données figurant dans ce tableau ne concernent qu'un seul examen de selles pour chaque enfant et permettent d'envisager plusieurs éventualités :

1<sup>o</sup> Une seule colicine est décelée (cas n<sup>os</sup> 1, 3 et 5) : l'examen de la suspension des selles en eau distillée fournit une précision indispensable sur la proportion réelle de la souche colicinogène qui peut être insignifiante ou au contraire considérable : 61 p. 100 dans le cas n<sup>o</sup> 3.

2<sup>o</sup> Plusieurs souches colicinogènes sont décelées et se retrouvent avec des proportions du même ordre dans les différents échantillons (cas n<sup>o</sup> 2).

3<sup>o</sup> Il existe une discordance évidente entre les trois résultats : ou bien la souche colicinogène, sélectionnée par dix-huit heures de culture en bouillon à  $37^{\circ}$ , n'est pas celle qui a été trouvée dans la suspension (cas n<sup>o</sup> 4) ; ou bien, parmi les quatre souches colicinogènes présentes, deux seulement sont décelées dans la culture de 18 heures (cas n<sup>o</sup> 6). Dans de tels cas, la confrontation des résultats fournis par les trois épreuves permet d'éliminer deux causes d'erreur : d'une part, le développement éventuel, dans les cultures, de bactéries qui inhibent la croissance des souches colicinogènes ; d'autre part, la croissance

(1) Nous adressons nos plus vifs remerciements au D<sup>r</sup> J. Hewitt, médecin de l'Hôpital Broca, ainsi qu'aux D<sup>rs</sup> P. Desvignes, J.-J. Meyer et J. Schlafer, qui ont bien voulu nous adresser ces enfants.



rapide de certaines bactéries (*Proteus*, pyocyaniques) qui possèdent une activité anti-colicine liée à leur pouvoir protéolytique.

4° Quant aux proportions relatives des différents germes antibiotiques par rapport au nombre total des colonies bactériennes développées en double couche, elles n'ont pas une valeur absolue. Elles sont évidemment influencées par la fraction non colicinogène des Entérobactériacées présentes, dont les techniques habituelles d'examen des selles permettent de préciser la nature et l'abondance.

TABLEAU I.

Epreuve	Enfants	Nbre de souches colicinogènes isolées	Nbre total de colonies dénombrées	% des différentes variétés colicinogènes			
				1	2	3	4
Suspension	n°1 Lan..	1	320	25,1	-	-	-
	n°2 Rex..	3	1082	4,7	0,1	0,2	-
	n°3 Ada..	1	274	01,2	-	-	-
	n°4 Seb..	1	506	1,7	-	-	-
	n°5 Dau..	1	1405	8	-	-	-
	n°6 Jer..	3	2625	0,34	0,37	0,19	-
Cultures de 6h.30	n°1 Lan..	1	1040	4	-	-	-
	n°2 Rex..	3	758	6,5	0,9	2,9	-
	n°3 Ada..	-	-	-	-	-	-
	n°4 Seb..	2	1900	0,16	0,26	-	-
	n°5 Dau..	1	668	16,7	-	-	-
	n°6 Jer..	3	1350	1,9	-	3,9	0,6
Cultures de 18h.30	n°1 Lan..	1	704	29	-	-	-
	n°2 Rex..	3	506	8,2	0,7	2,1	-
	n°3 Ada..	1	301	20,2	-	-	-
	n°4 Seb..	1	957	-	0,1	-	-
	n°5 Dau..	1	209	20,5	-	-	-
	n°6 Jer..	2	1285	-	-	4	0,27

Pour chaque type d'épreuve (suspension, culture de 6 h. 30 et culture de 18 heures), on a indiqué le nombre total des colonies dénombrées en double couche et le pourcentage respectif des différentes variétés de colonies bactériennes actives sur *E. coli* K12 (numérotées de 1 à 4). Dans l'observation n° 3 (enfant Ada...) les examens n'ont porté que sur la suspension en eau distillée et la culture en bouillon de 18 heures.

Les résultats rassemblés dans le tableau I s'inscrivent ainsi entre deux extrêmes : d'une part, la coexistence en proportions très faibles de plusieurs variétés antibiotiques dont le caractère saprophyte apparaît d'emblée comme vraisemblable (cas n° 6) ; d'autre part, la prépondérance très nette d'une bactérie colicinogène dont l'étude des caractères biochimiques et sérologiques et surtout le contexte clinique permettront d'envisager le rôle pathogène (cas n° 1).

Entre les deux, s'intercalent les observations (cas nos 2, 4 et 5) où la recherche systématique des bactéries colicinogènes permet d'affirmer la variété d'une flore colibacillaire en apparence uniforme, et d'apporter des éléments nouveaux au diagnostic et à la thérapeutique des dysbactérioses intestinales.

RÉSUMÉ. — L'application de la technique de Gratia (dite de la double couche de gélose) à trois préparations successives obtenues à partir

d'un seul échantillon de selles (suspension en eau distillée, culture en bouillon de 6 h. 30 et culture en bouillon de 18 heures) permet de déceler la présence simultanée de plusieurs Entérobactériacées élaborant une ou plusieurs colicines actives sur *E. coli* K12. Il devient également possible de préciser les proportions relatives des diverses souches antibiotiques non seulement vis-à-vis de chacune d'entre elles, mais encore par rapport à la fraction non colicinogène de la flore bactérienne présente dans l'échantillon de selles examiné. Cette méthode peut compléter utilement les indications fournies par les techniques habituelles d'isolement des Entérobactériacées.

### SUMMARY

#### ISOLATION AND ENUMERATION OF COLICINOGENIC BACTERIA.

By means of Gratia's technique (double agar layer) the author studies three successive preparations obtained from one stool sample (suspension in distilled water, a 6 h. 30 broth culture, and a 18 h. broth culture).

This technique allows to demonstrate the simultaneous presence of several *Enterobacteriaceae* elaborating one or several colicins which are active on *E. coli* K12. It also allows to state the relative percentage of the different strains possessing antibiotic properties towards any of the strains and towards the non colicinogenic fraction of the bacterial flora of the studied stool sample.

The method allows to complete the results of the routine techniques of *Enterobacteriaceae* isolation.

### BIBLIOGRAPHIE

- [1] FREDERICQ (P.), BETZ-BAREAU (M.) et NICOLLE (P.). *C. R. Soc. Biol.*, 1956, **150**, 2039.
- [2] GRATIA (A.), FREDERICQ (P.), JOIRIS (E.), BETZ-BAREAU (M.) et WEERTS (E.) *Ant. v. Leuwenhoeck*, 1950, **167**, 31.
- [3] HAMON (Y.) et BRAULT (G.). *C. R. Acad. Sci.*, 1958, **246**, 1779.
- [4] HAMON (Y.). *C. R. Acad. Sci.*, 1958, **147**, 1260.
- [5] HAMON (Y.). *Ann. Inst. Pasteur*, 1959, **96**, 614.

---

Les communications suivantes paraîtront en *Mémoire* dans les *Annales de l'Institut Pasteur* :

**Survie et multiplication du BCG et du bacille tuberculeux chez la souris en fonction du temps. I. — Etude d'une méthode de mesure**, par M. PANISSET et J.-C. BENOIT.

**Etude des facteurs intrinsèques de *Mycobacterium tuberculosis* expliquant l'état de quiescence et les échecs de culture sur milieux usuels**, par P.-J. COLETOS.

**Sur l'utilisation du citrate dans la tribu des *Escherichiae*,**  
par S. SZTIRM-RUBINSTEIN et D. PIÉCHAUD.

**Variation naturelle du virus grippal de type A vis-à-vis des  
inhibiteurs sériques des animaux normaux,** par B. FAUCONNIER.

**Adaptation artificielle du virus grippal aux inhibiteurs du  
sérum normal. I. — Obtention, à partir d'une souche sen-  
sible, d'un variant insensible par culture du virus en  
présence de son inhibiteur,** par B. FAUCONNIER, R.-M. LARTITÉGUY  
et D. BARUA.

---

### LIVRES REÇUS

**F. Grundy et J. M. Mackintosh. — *L'enseignement de l'hygiène et de  
la santé publique en Europe*, Genève, 1958. Organisation de la  
Santé : Série de Monographies, n° 34, 280 p. Prix : Fr. s. 12, - -,  
£ 1 ou \$ 4,00. Existe aussi en anglais ; édition espagnole en pré-  
paration (Dépositaire pour la France, Librairie Masson, 120, bou-  
levard Saint-Germain, Paris).**

Cette monographie a été écrite par F. Grundy, professeur de médecine préventive à Cardiff, et Mackintosh, professeur d'hygiène publique à Londres. L'introduction est due au Dr Parisot, de Nancy. L'enseignement universitaire et post-universitaire de l'hygiène, de la médecine préventive et de la médecine sociale revêt, suivant les pays, une grande variété d'aspects. Pour effectuer cette étude qui porte sur dix-neuf pays d'Europe, les auteurs ont puisé dans les documents de deux conférences organisées par l'O. M. S. à Nancy et à Göteborg, et dans les informations recueillies directement auprès des membres du corps enseignant. Le but de cette monographie est d'effectuer une synthèse des différentes vues. C'est la première fois que les faits essentiels se trouvent ainsi réunis et présentés sous une forme facile à assimiler.

Dans l'introduction les auteurs montrent comment, sous l'influence des progrès des sciences et de l'élévation de la santé publique au rang de carrière médicale, s'est développé l'enseignement de l'hygiène et de la médecine préventive. Puis six chapitres sont consacrés à l'enseignement universitaire de ces matières (structure et contenu des programmes d'études, méthodes et procédés d'enseignement, collaboration avec les autres chaires de Faculté et les institutions extérieures, organisation du département de médecine sociale, etc.). Un autre chapitre a trait à l'enseignement post-universitaire de la santé publique (principe de l'enseignement post-universitaire, fonctions d'un médecin de santé, types divers des services de santé en Europe). Enfin le dernier chapitre contient les observations sur les programmes particuliers à 19 pays d'Europe. Deux annexes sont consacrées aux conclusions formulées par les deux conférences de l'O. M. S. qui ont fourni la documentation de base utilisée pour cette étude.

L. L.



**A. L. Walpole et A. Spinks.** — *A Symposium on the evaluation of drug toxicity.* J. et A. Churchill, édit., Londres, 1958. Prix : 25 shillings.

Le titre complet de ce petit livre indique qu'il ne s'agit pas d'un manuel mais d'un Symposium. Chacun de ses articles reflète la spécialisation et les conceptions propres à son auteur. De ce fait, certains lecteurs seront peut-être déçus de n'y pas trouver davantage de renseignements méthodologiques sur l'évaluation elle-même de la toxicité des drogues. Par contre, tous seront séduits par des exposés très vivants, montrant la multiplicité et le caractère fondamental de quelques-uns des problèmes soulevés par l'étude de la toxicité. C'est pourquoi plusieurs de ces articles — et particulièrement ceux de la deuxième partie — intéresseront non seulement les chercheurs directement préoccupés par l'évaluation de la toxicité, mais tous ceux qui se rappellent que l'action — toxique ou non — d'une drogue est l'un des moyens qui permet d'aborder les mécanismes biochimiques les plus intimes des fonctions tissulaires ou cellulaires.

Les différents rapports sont intitulés :

Première partie. Problems of toxicity in clinical medicine (E. J. Wayne). Sexual differences in the toxicity and therapeutic action of chemical substances (E. Weston Hurst). The morphological evaluation of toxic action (E. G. Paget). Determination of efficacy and safety of new drugs (J. T. Litchfield). The testing of drugs for toxicity (J. M. Barnes).

Deuxième partie. Allergic reactions as hazards in the use of new drugs (G. E. Davies). The toxic action of drugs on the bone marrow (W. Jacobson). Some experimental studies on toxic liver injury (P. N. Magee). Actions of drugs on subcellular structures (J. D. Judah, K. R. Rees).  
J. J.

**R. W. Riddell et G. T. Stewart.** — *Fungous diseases and their treatment.* 1 vol., 256 p., Butterworth et Co, édit., Londres, 1958. Prix : 45 shillings.

Ce livre réunit les communications et les rapports présentés au Symposium sur les mycoses et leur traitement qui eut lieu à Londres en juillet 1957. Les données les plus récentes concernant la pathologie, la clinique, l'épidémiologie, les méthodes de diagnostic et le traitement des principales mycoses sont rapportées dans ce livre édité d'une façon remarquable, avec d'excellentes photographies.

Parmi les nombreux sujets traités soulignons : le rôle des champignons comme agents pathogènes chez l'homme (R. W. Riddell) ; observations histopathologiques sur les mycoses profondes en Grande-Bretagne (W. St C. Symmers) ; pathogénie des teignes (R. Vanbreuseghem) ; infections à *Trichophyton rubrum* (C. D. Calman, M. P. English, J. G. Holmes, A. Tickner) ; immunité des infections à levures (H. I. Winner) ; infections à *Candida* (T. Anderson, I. Donald, S. M. Dawkins, J. Bound, M. Bodian, I. A. M. Cathie) ; infections à actinomycètes aérobies (F. Mariat) ; aspergillose broncho-pulmonaire (K. F. W. Hinson, G. Segretain, K. Citron) ; histoplasmoses (C. C. Campbell,



P. Q. Edwards) ; radiologie des mycoses pulmonaires (J. W. Pierce) ; mode d'action des antifongiques (G. T. Stewart) ; utilisation thérapeutique des agents antifongiques (E. Drouhet) ; expériences thérapeutiques sur 60 cas de mycoses profondes (M. L. Furcollow), etc.

E. D.

**David Charles.** — *Commercial and industrial photography for the student, the laboratory, the commercial studio and for the industrial workshop.* 1 vol., 402 p., Chapman et Hall, édit., Londres, 1958. Prix : 52 shillings.

C'est un ouvrage original et très attrayant qui est abondamment illustré de schémas très clairs et de nombreuses photographies. L'auteur aborde tous les sujets de la technique photographique : appareils, objectifs, accessoires, choix du matériel sensible, méthodes de mise au point, détermination du temps de pose, installation de la chambre noire, etc., sans aucun appareil mathématique et dans un style familier, souvent plaisant. C'est un ouvrage que l'on consultera avec profit quand on voudra aborder la photographie comme un débutant, mais il est certain que les professionnels les plus avertis le parcourront avec plaisir en relevant bien des suggestions ou des conseils agréablement présentés. Un lexique et un index facilitent l'emploi de l'ouvrage.

P. M.

**C. A. Lamb, O. G. Bentley et J. M. Beattie.** — *Trace elements (Proceedings of the Conference held at the Ohio Agricultural Experiment Station, Wooster, Ohio, October 14-16, 1957).* 1 vol., 410 p., Academic Press Inc., New-York et Londres.

Ce livre, résultat d'une conférence tenue à Wooster en 1957, ne peut pas prétendre épuiser la question des oligo-éléments (trace elements). Il présente néanmoins un très grand intérêt. Vingt-quatre articles d'importance inégale y exposent les points de vue de leurs auteurs et l'on peut noter que, cette fois, un effort a été fait dans le sens de la bibliographie historique. Regrettons seulement que cette bibliographie ait été faite en général sans différencier ce qui est important et soit souvent très incomplète. Si bien que l'on en arrive à retrouver dans les conclusions générales de Elvehjem, des faits déjà enseignés avant 1940 et que l'on avait oubliés. D'autres le sont encore et seront retrouvés, espérons-le, dans le futur. Par contre, ce livre résume bien de nombreux faits récents essentiels qui sont assez difficiles à isoler d'une littérature malheureusement assez dispersée.

D. B.

**M. J. Pelczar Jr et R. D. Reid.** — *Laboratory exercises in microbiology.* 1 vol., 173 p., McGraw-Hill Book Co, Inc., New-York, Toronto, Londres, 1958.

Cet opusculé est un cahier de travaux pratiques de bactériologie élémentaire enseignée aux étudiants des Etats-Unis. Il complète le manuel de bactériologie des mêmes auteurs. Il contient un choix d'expériences simples, basées sur des séances de deux heures deux fois par semaine pendant six mois. Présenté sous forme de feuilles déta-

chables, il comprend le principe de l'expérience, la façon d'opérer, une place pour inscrire les résultats et effectuer des schémas, enfin quelques questions auxquelles doivent répondre les étudiants, relatives à la manipulation effectuée. Ce cahier de travaux pratiques sera consulté avec intérêt par tous ceux qui sont chargés de l'enseignement de la microbiologie. L. L.

*Normes internationales applicables à l'eau de boisson.* Organisation mondiale de la Santé, Genève, 1958 ; 164 pages. Prix : Fr. s. 12,—, £ 1 ou \$ 4,00. Publié également en anglais (Dépositaire pour la France : Librairie Masson, 120, boulevard Saint-Germain, Paris).

Afin d'élaborer des normes de pureté des eaux qui soient universellement acceptables, l'O. M. S. avait convoqué en 1955-1956 des groupes d'experts. Il en est résulté ce volume où sont exposées les normes auxquelles doit répondre l'eau de boisson, les méthodes préconisées pour son analyse, le matériel nécessaire pour les appliquer. Les principaux chapitres sont les suivants : conditions bactériologiques (absence de bactéries pathogènes), chimiques (absence de substances toxiques ou nuisibles à la santé, teneurs admissibles pour d'autres substances ou propriétés affectant la potabilité), biologiques (absence de matières organiques) ; conditions de radio-activité (valeurs limites admissibles dans l'eau de boisson). Des indications sont données sur la façon d'effectuer les prélèvements et de conserver les échantillons, de tenir les dossiers et archives du laboratoire. L. L.

**H. Flamm.** — *Die pränatalen Infektionen des Menschen.* 1 vol., 135 p., Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1959.

Les différentes infections étudiées sont groupées sous différents chapitres :

I. Affections à virus : 1° Virus dermatotropes et embryopathies à virus. 2° Poliomyélites et autres virus neurotropes. 3° Virus à inclusions cytomégaliqes. 4° Autres virus hépatotropes, adénotropes et pneumotropes.

II. Affections bactériennes : Tuberculose, lèpre, syphilis, leptospirose, parasites divers.

L'exposé se termine par un court résumé de nos connaissances sur l'immunologie des périodes pré-natale et néo-natale. L'auteur n'est pas partisan de pratiquer l'immunisation de la mère pendant la gestation. Une bibliographie de 30 pages et un index complètent cette petite monographie. A. E.